



SKRIPSI – TK141581

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI DAN
PENAMBAHAN KULTUR TERHADAP MUTU
SINGKONG TERMODIFIKASI**

Disusun Oleh:

Tika Surya Ningsih

NRP. 2315105009

Sekar Bias Tri Cahyani

NRP. 2315105010

Dosen Pembimbing:

Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D.

NIP. 1976 03 23 2002 12 1001

**DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2017**



FINAL PROJECT– TK141581

**EFFECT OF FERMENTATION TIME AND
CULTIVATION ADDITION ON QUALITY OF CASSAVA
MODIFIED**

**Tika Surya Ningsih
NRP. 2315105009
Sekar Bias Tri Cahyani
NRP. 2315105010**

**Advisor Lecturer:
Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D.
NIP. 1976 03 23 2002 12 1001**

**CHEMICAL ENGINEERING DEPARTMENT
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER
SURABAYA 2017**

LEMBAR PENGESAHAN

Pengaruh Waktu Fermentasi Dan Penambahan Kultur Terhadap Mutu Singkong Termodifikasi

Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Memperoleh Gelar
Sarjana Teknik pada Program Studi S-1 Departemen Teknik
Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

Oleh:

Tika Surya Ningsih

NRP 2315 105 009

Sekar Bias Tri Cahyani

NRP 2315 105 010

Disetujui oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

1. Setiyo Gunawan, ST., Ph.D.
(Pembimbing 1)
2. Prof. Dr. Ir. Tri Widjaja, M.Eng.
(Penguji I)
3. Hakun Wirawasista A., ST, MMT., Ph.D.
(Penguji II)









Pengaruh Waktu Fermentasi dan Penambahan Kultur Terhadap Mutu Singkong Termodifikasi

Nama : 1. Tika Surya Ningsih (2315 105 009)
2. Sekar Bias Tri Cahyani (2315 105 010)
Dosen Pembimbing : Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D.
Jurusan : Teknik Kimia, FTI-ITS

ABSTRAK

Nilai impor tepung terigu sebagai komoditi pangan sumber karbohidrat terus mengalami peningkatan dari tahun ke tahun dan menjadikan Indonesia sebagai importir gandum terbesar nomor dua dunia setelah Mesir. Dalam rangka mengurangi ketergantungan Indonesia terhadap impor terigu, maka upaya optimalisasi pemanfaatan sumber pangan lokal perlu dilakukan. Salah satu komoditi pangan sumber karbohidrat yang melimpah di Indonesia adalah singkong. Singkong merupakan tanaman tropis, produktif dan mudah dibudidayakan sehingga sangat diharapkan dapat menjadi salah satu solusi untuk meningkatkan ketahanan pangan nasional Indonesia. Singkong karet (*Manihot glaziovii*) menghasilkan HCN yang jumlahnya jauh lebih tinggi dibanding singkong biasa (*Manihot esculenta*) sehingga tidak bisa dikonsumsi secara langsung. Singkong karet yang digunakan pada penelitian ini mengandung kadar HCN mencapai 338,41 ppm. MOCAF (*Modified cassava flour*) merupakan sejenis tepung yang dibuat dari ubi kayu, prinsip pembuatannya adalah dengan memodifikasi ubi kayu dengan mikrobial. Bakteri yang digunakan untuk fermentasi dalam penelitian ini adalah *Lactobacillus plantarum* yang mentolerir konsentrasi sianida tinggi hingga 800 ppm. Variabel-variabel yang digunakan adalah, waktu fermentasi yaitu 12, 24 dan 36 jam juga konsentrasi bakteri 7×10^{10} , 7×10^{11} , $1,05 \times 10^{12}$ dan $3,5 \times 10^{12}$ sel *Lactobacillus plantarum* / mL. Respon dari penelitian ini adalah Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*, Grafik

Kadar HCN, Grafik Kadar Protein, Grafik Kadar Pati, Grafik Kadar Amilosa dan Amilopektin dari singkong karet. Hasil fermentasi terbaik untuk semua respon penelitian adalah variabel konsentrasi $3,5 \times 10^{12}$ sel/ml selama 36 jam fermentasi yang dapat menaikkan kadar protein 1,25% menjadi 3,65%, menurunkan kadar HCN menjadi 10,44 ppm, menurunkan kadar pati 81,57% menjadi 57,51% dengan kadar amilosa 26% dan amilopektin 31,51%.

Kata kunci : *Fermentasi, Lactobacillus plantarum, Manihot glaziovii, Modified cassava flour*

Effect of Fermentation Time and Cultivation Addition on Quality of Cassava Modified

Name : 1. Tika Surya Ningsih (2315 105 009)
2. Sekar Bias Tri Cahyani (2315105 010)
Advisor : Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D.
Department : Teknik Kimia, FTI-ITS

ABSTRACT

The imports value of wheat flour as a food commodity carbohydrate source continues to increase from year to year and make Indonesia as the world's second largest importer of wheat after Egypt. In order to reduce Indonesia's dependence on wheat imports, efforts to optimize the utilization of local food sources need to be done. One of the food commodities source of abundant carbohydrate in Indonesia is cassava. Cassava is a tropical plant, productive and easily cultivated so it is expected to be one solution to improve national food security of Indonesia. Wild cassava produces HCN which is much higher than ordinary cassava (*Manihot esculenta*) so it can not be consumed directly. The wild cassava (*Manihot glaziovii*) used in this study contained cyanide acid (HCN) levels of 338.41 ppm. MOCAF (*Modified cassava flour*) is a kind of flour made from cassava, the principle of manufacture is by modifying cassava with microbes. The bacteria used for fermentation in this study were *Lactobacillus plantarum* which tolerated high cyanide concentrations up to 800 ppm. The variables used were fermentation time of 12, 24 and 36h as well as bacteria concentration of 7×10^{10} , 7×10^{11} , 1.05×10^{12} and 3.5×10^{12} cells / mL. Response of this research was growth curve of *Lactobacillus plantarum*, Graph of HCN Content, Protein Graph of Content, Grade of Starch Content, Graph of Amylose Content and Amylopectin from wild cassava. The best fermentation result for all the research responses was the concentration variables of 3.5×10^{12} cells / mL for 36 h of

fermentation which could increase the protein content of 1.25% to 3.65%, decrease the HCN level to 10.44 ppm, decrease the starch content to 81.57 % To 57.51% with amylose content of 26% and amylopectin 31.51%

Keyword : Fermentation, Lactobacillus plantarum, Manihot glaziovii, Modified cassava flour

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah, Tuhan Yang Maha Esa. Atas rahmat dan karunia-Nya berupa kesehatan akal, jasmani dan rohani kami dapat menyelesaikan laporan skripsi dengan judul **“Pengaruh Waktu Fermentasi dan Penambahan Kultur Terhadap Mutu Singkong Termodifikasi”**. Laporan skripsi ini dibuat sebagai salah satu bagian dari tugas akhir untuk memperoleh gelar kesarjanaan.

Selama penyusunan proposal skripsi ini, kami banyak sekali mendapat bimbingan, dorongan, serta bantuan dari banyak pihak. Untuk itu, kami ingin mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Juwari Purwo Sutikno, S.T., M.Eng., Ph.D., selaku Ketua Departemen Teknik Kimia FTI-ITS Surabaya.
2. Bapak Setiyo Gunawan, S.T., Ph.D selaku Dosen Pembimbing yang selalu meluangkan waktu untuk memberikan saran, bimbingan dan dukungan kepada kami.
3. Bapak Prof. Dr. Ir. Arief Widjaja, M.Eng selaku Kepala Laboratorium Teknologi Biokimia
4. Bapak dan Ibu Dosen Pengajar yang telah memberikan ilmunya serta seluruh karyawan Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS Surabaya.
5. Orang tua serta saudara-saudara kami atas doa, dukungan, bimbingan, perhatian dan kasih sayang yang selalu tercurah.
6. Teman-teman seperjuangan atas dukungan yang telah diberikan.

Kami menyadari bahwa penulisan laporan skripsi ini masih ada kekurangan dan ketidaksempurnaan, oleh karena itu kami sangat mengharapkan saran dan masukan yang membangun demi kesempurnaan laporan skripsi ini.

Surabaya, Juli 2017

Penyusun

DAFTAR ISI

Halaman Judul	
Lembar Pengesahan	
Abstrak	ii
Abstrack	iv
Kata Pengantar	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	ix
Daftar Tabel	xi
BAB I	PENDAHULUAN
I.1 Latar Belakang	I-1
I.2 Rumusan dan Batasan Masalah.....	I-4
I.3 Tujuan Penelitian	I-4
I.4 Manfaat Penelitian	I-5
BAB II	TINJAUAN PUSTAKA
II.1 Singkong (<i>Manihot esculenta</i>) dan Pemanfaatannya	II-1
II.2 Singkong Karet (<i>Manihot glaziovii</i>) dan Pemanfaatannya	II-6
II.3 <i>Lactobacillus plantarum</i>	II-11
II.4 Fermentasi	II-14
II.5 MOCAF (Modified Cassava Flour).....	II-15
II.6 Asam Laktat Sebagai Produk Samping MOCAF	II-18
II.7 Metode Analisis Kandungan MOCAF pada Penelitian Sebelumnya	II-19
II.8 Studi Penelitian Sebelumnya	II-25
BAB III	METODOLOGI PENELITIAN
III.1 Variabel Penelitian	III-1
III.2 Kondisi Operasi	III-1
III.3 Respon	III-1
III.4 Bahan yang Digunakan	III-1
III.5 Alat yang Digunakan	III-2
III.6 Gambar Alat	III-3

	III.7 Prosedur Penelitian.....	III-5
	III.8 Flowchart Prosedur Penelitian	III-10
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	
	IV.1 Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme.....	IV-1
	IV.2 Proksimat Bahan Awal Singkong Karet.....	IV-3
	IV.3 Pengaruh Jumlah Sel dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Pati	IV-6
	IV.4 Pengaruh Jumlah Sel dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Protein.....	IV-7
	IV.5 Pengaruh Jumlah Sel dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar HCN.....	IV-15
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	V-1
	Daftar Pustaka	xiii
	Daftar Notasi	xviii
	Appendiks	
	Riwayat Hidup Penulis	

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	Provinsi Sentra Produksi Ubi Kayu di Indonesia, Rata-rata Tahun 2011-2015.....	II-2
Gambar II.2	Tepung Lafun	II-4
Gambar II.3	Tepung Gari.....	II-4
Gambar II.4	Urutan Operasi pada Pembuatan Tepung Singkong Fufu	II-5
Gambar II.5	Tape Singkong	II-6
Gambar II.6	Umbi Singkong Karet.....	II-7
Gambar II.7	Bentuk <i>Lactobacillus plantarum</i>	II-12
Gambar II.8	Kurva Pertumbuhan Bakteri <i>Lactobacillus plantarum</i>	II-13
Gambar II.9	Grafik Penurunan Kadar HCN Tepung MOCAF.....	II-26
Gambar II.10	Grafik Hubungan Waktu dan Kandungan Asam Laktat.....	II-29
Gambar III.1	Rangkaian Alat Dekstruksi Protein	III-3
Gambar III.2	Rangkaian Alat Distilasi.....	III-3
Gambar III.3	Rangkaian Alat Titirasi.....	III-3
Gambar III.4	Rangkaian Sistem HPLC	III-4
Gambar III.5	Spektrofotometer	III-4
Gambar III.6	(a) <i>Incubator Shaker</i> (b) Inkubator (c) Oven (d) Hemasitometer (e) Mikroskop (f) <i>Centrifuge</i> (g) Botol Fermentasi	III-4
Gambar III.7	Skema Prosedur Penelitian.....	III-10
Gambar IV.1	Kurva Pertumbuhan <i>Lactobacillus</i> <i>plantarum</i>	IV-2
Gambar IV.2	Grafik Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar Pati MOCAF.....	IV-6
Gambar IV.3	Grafik Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar Amilosa MOCAF.....	IV-9

Gambar IV.4	Grafik Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar Amilopektin MOCAF	IV-14
Gambar IV.5	Grafik Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar Protein MOCAF.....	IV-14
Gambar IV.6	Grafik Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar HCN MOCAF	IV-16
Gambar IV.7	<i>Normal Probability Plot</i> untuk Respon (a) Kadar Pati (b) Kadar Amilosa (c) Kadar Amilopektin (d) Kadar Protein (e) Kadar HCN.....	IV-17

DAFTAR TABEL

Tabel I.1	Data Konsumsi Nasional Tepung Terigu di Indonesia(2010-2014).....	I-1
Tabel II.1	Varietas Unggul Singkong yang Sesuai untuk Bahan Baku Industri Beserta Karakteristiknya.....	II-2
Tabel II.2	Data Kandungan Singkong Karet (<i>Manihot glaziovii</i>).....	II-8
Tabel II.3	Profil Asam Amino dari Varietas Singkong Manis dan Pahit.....	II-10
Tabel II.4	Karakteristik Bahan Baku.....	II-11
Tabel II.5	Perbandingan Hasil Fermentasi Rendaman (<i>Submerged</i>) dan Anaerobik.....	II-15
Tabel II.6	Perbandingan Kandungan MOCAF, Lafun, Garri dan Tepung Terigu.....	II-17
Tabel II.7	Syarat Mutu Komposisi Tepung MOCAF dan Tepung Terigu	II-18
Tabel II.8	Metode Analisis dalam Penelitian Sebelumnya	II-19
Tabel II.9	Hasil Perbandingan Fermentasi dengan Tiga Macam Mikroorganisme	II-25
Tabel IV.1	Hasil Analisis Proksimat Awal Singkong Karet	IV-3
Tabel IV.2	Komposisi Asam Amino Singkong Karet Segar dan Gen <i>Lactobacillus plantarum</i> (GAD).....	IV-5
Tabel IV.3	Komposisi Amilosa dan Amilopektin Pati Ganyong	IV-12
Tabel IV.4	Pati Resisten pada Pati Asli dan Pati Modifikasi	IV-12
Tabel IV.5	Data Hasil Penelitian	IV-18
Tabel IV.6	Data Hasil Perhitungan pada Kadar Pati	IV-22

Tabel IV.7	Data Hasil Perhitungan pada Kadar Amilosa.....	IV-22
Tabel IV.8	Data Hasil Perhitungan pada Kadar Amilopektin	IV-23
Tabel IV.9	Data Hasil Perhitungan pada Kadar Protein.....	IV-23
Tabel IV.10	Data Hasil Perhitungan pada Kadar HCN.....	IV-24

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Nilai impor tepung terigu sebagai komoditi pangan sumber karbohidrat terus mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Dalam data yang dikutip dari Departemen Pertanian Amerika Serikat (USDA) impor gandum, tepung gandum, dan produk gandum Indonesia pada 2014/2015 (Juli-Juni) mencapai 7,49 juta ton, sedangkan impor gandum Indonesia pada 2015/2016 (Juli-Juni) mencapai 8,10 juta ton. Dengan impor sebanyak itu, Indonesia merupakan importir gandum terbesar nomor dua dunia setelah Mesir yang mencapai 11,50 juta ton (Listiyarini, 2016).

Peningkatan kebutuhan terigu Indonesia ini lama kelamaan akan memberatkan devisa negara. Dalam rangka mengurangi ketergantungan Indonesia terhadap impor terigu, maka upaya optimalisasi pemanfaatan sumber pangan lokal perlu dilakukan. Sebagai negara agraris Indonesia kaya akan sumber pangan tinggi karbohidrat. Salah satu komoditi pangan sumber karbohidrat yang melimpah di Indonesia adalah singkong. Singkong merupakan tanaman tropis, produktif dan mudah dibudidayakan sehingga sangat diharapkan dapat menjadi salah satu solusi untuk meningkatkan ketahanan pangan nasional Indonesia. Singkong berasal dari benua Amerika, tepatnya dari negara Brazil dan masuk ke Indonesia pada tahun 1852. Di Indonesia, ketela pohon menjadi makanan bahan pangan pokok setelah beras dan jagung (Ramlan, 2014).

Singkong segar mempunyai komposisi kimiawi terdiri dari kadar air sekitar 60%, pati 35%, serat kasar 2,5%, kadar protein 1%, kadar lemak, 0,5% dan kadar abu 1%, karenanya merupakan sumber karbohidrat dan serat makanan, namun sedikit kandungan zat gizi seperti protein. Singkong segar mengandung senyawa glikosida sianogenik dan bila terjadi proses oksidasi oleh enzim linamarase maka akan dihasilkan glukosa dan asam

sianida (HCN) yang ditandai dengan bercak warna biru, akan menjadi toxic/racun bila dikonsumsi pada kadar HCN lebih dari 10 ppm (Balitbang pertanian, 2011).

Singkong karet/singkong genderuwo (*Manihot glaziovii*) merupakan sejenis pohon dengan tinggi hingga 6 m (Orwa, dkk., 2009). Jenis singkong ini memiliki sistem akar berbonggol berkembang dengan baik dan memiliki ketahanan terhadap kekeringan (Andrade, 2006). Akar pohon kaya pati tetapi bersifat keras dan mengandung HCN, jumlahnya bervariasi dan tergantung pada spesies dan variasi, namun biasanya sekitar 1000 mg/kg. Pengeringan di bawah sinar matahari menurunkan HCN sampai 300 mg/kg. Saat ini, spesies ini biasanya ditanam untuk dimanfaatkan daunnya sebagai pakan ternak dan sangat berguna saat iklim semi-kering. Tidak ada efek racun yang ditemukan pada sapi saat diberi makan daun singkong karet secara eksklusif selama 10 hari. Pada hewan ternak kambing, asupan juga tidak menghasilkan gejala keracunan tapi di tingkat yang lebih tinggi tidak disarankan (Salviano, 1988).

Menurut Zulaidah, (2011) upaya pendayagunaan ubi kayu sebagai penyangga ketahanan pangan, diantaranya adalah melalui pengembangan teknologi pembuatan Tepung MOCAF (*Modified cassava flour*) agar produk yang dihasilkan lebih disukai konsumen dan sifat fisiko kimianya meningkat sehingga cocok sebagai pengganti tepung terigu pada pengolahan produk pangan, seperti *cookies*, roti, dan mie. Tepung MOCAF merupakan sejenis tepung yang dibuat dari ubi kayu, prinsip pembuatannya adalah dengan memodifikasi ubi kayu dengan mikrobia. Mikrobia yang tumbuh menghasilkan enzim yang dapat menghancurkan dinding sel singkong, sehingga terjadi perubahan granula pati. Mikrobia tersebut juga menghasilkan enzim-enzim yang menghidrolisis pati menjadi gula dan selanjutnya mengubahnya menjadi asam-asam organik, terutama asam laktat. Hal ini menyebabkan karakteristik dari tepung yang dihasilkan berupa naiknya viskositas, daya rehidrasi, dan kemudahan melarut. Demikian

pula cita rasa MOCAF menjadi netral dengan menutupi cita rasa singkong sampai 70% (Iqbal, dkk., 2012).

Kondisi saat ini menunjukkan bahwa produk MOCAF secara ekonomis ternyata jauh lebih murah daripada produk terigu yang selama ini beredar di pasaran. Bahan baku yang mudah dibudidayakan, murah harganya ubi kayu di pasaran saat ini, serta proses pengolahan tepung yang tidak memerlukan teknologi tinggi, membuat harga MOCAF saat ini hanya berkisar antara 40-60 persen dari harga terigu. Hal ini membuat produk jadi apapun yang dihasilkan dari MOCAF ini akan lebih menguntungkan dibandingkan dengan tepung terigu (Ramlan, 2014).

Salah satu sumber bakteri asam laktat potensial adalah *Lactobacillus* yang merupakan genus bakteri gram-positif, anaerobik fakultatif atau mikroaerofilik. Genus bakteri ini membentuk sebagian besar dari kelompok bakteri asam laktat, dinamakan demikian karena kebanyakan anggotanya dapat mengubah laktosa dan gula lainnya menjadi asam laktat. Kebanyakan dari bakteri ini umum dan tidak berbahaya bagi kesehatan. Beberapa spesies *Lactobacillus* sering digunakan untuk industri pembuatan yogurt, keju, acar, bir, anggur (minuman), cuka, kimchi, cokelat, dan makanan hasil fermentasi lainnya, termasuk juga pakan hewan, seperti silase. Bakteri ini bekerja secara metabolisme homofermentatif (hanya membentuk asam laktat dari gula). *L. plantarum* mempunyai aktivitas laktase sangat tinggi dan dapat menghasilkan dan melepaskan laktase melalui perut dan usus kecil, memfasilitasi pencernaan laktosa. *L. plantarum* juga merupakan mikroorganisme *thermophilic*, tumbuh optimum pada suhu 55 dan 65°C (Atika, dkk., 2010).

Penelitian dengan bahan baku singkong untuk pembuatan tepung MOCAF telah banyak dilakukan. Obloh, dkk., (2002) melakukan upaya untuk meningkatkan kualitas gizi (protein dan lemak) dan menurunkan kadar sianida produk singkong (tepung dan gari) dengan melakukan fermentasi (media padat) pulp singkong dengan menggunakan bakteri *Aspergillus niger*. Gunawan, dkk., (2015) memproduksi tepung MOCAF dengan

menggunakan fermentasi *L. plantarum*, *S. cerevisiae*, dan *R. oryzae* yang murah dan non patogen untuk meningkatkan kadar protein dan menurunkan kadar asam sianida dalam tepung MOCAF. Didapatkan hasil bahwa *L. plantarum* lebih efisien daripada kedua bakteri yang lain. Penelitian ini dilakukan guna mengetahui komposisi proksimat (protein dan pati), penurunan HCN dan dekomposisi pati (amilosa dan amilopektin) pada produksi MOCAF dengan fermentasi menggunakan bakteri *L. plantarum*.

I.2 Rumusan dan Batasan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini antara lain :

1. Bagaimana pengaruh konsentrasi sel bakteri dan lama fermentasi terhadap komposisi proksimat pada MOCAF dari singkong karet?
2. Bagaimana pengaruh konsentrasi sel bakteri dan lama fermentasi terhadap kadar HCN pada MOCAF dari singkong karet?
3. Bagaimana dekomposisi pati (amilosa dan amilopektin) pada MOCAF dari singkong karet?

Adapun batasan penelitian ini antara lain :

1. Singkong yang digunakan adalah singkong karet (*Manihot glaziovii*)
2. Mikroorganisme yang digunakan untuk fermentasi adalah bakteri *Lactobacillus plantarum*.

I.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini antara lain :

1. Mengetahui pengaruh konsentrasi sel bakteri dan lama fermentasi terhadap komposisi proksimat pada MOCAF dari singkong karet.
2. Mengetahui pengaruh konsentrasi sel bakteri dan lama fermentasi terhadap kadar HCN pada MOCAF dari singkong karet.

3. Mempelajari dekomposisi pati (amilosa dan amilopektin) pada MOCAF dari singkong karet.

I.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian antara lain:

1. Memberikan informasi tentang pembuatan tepung MOCAF dari singkong karet dengan cara fermentasi menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum* beserta komposisi proksimat pada tepung yang dihasilkan.
2. Memberikan peluang yang lebih besar untuk petani singkong, karena singkong karet dapat memiliki nilai jual yang lebih.
3. Sebagai referensi untuk mengembangkan penelitian tentang MOCAF di masa yang akan datang.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

Singkong (*Manihot esculenta*) merupakan sumber bahan makanan ketiga di Indonesia setelah padi dan jagung. Singkong tidak memiliki periode matang yang jelas, akibatnya periode panen dapat beragam sehingga dihasilkan singkong yang memiliki sifat fisik dan kimia yang berbeda-beda (Firga, dkk., 2014). Menurut Khasanah (2009), singkong dapat dipanen pada saat pertumbuhan daun bawah mulai berkurang. Warna daun mulai menguning dan banyak yang rontok. Umur panen singkong yang telah mencapai 6-8 bulan untuk varietas genjah dan 9-12 bulan untuk varietas dalam.

Singkong merupakan tanaman yang memiliki kandungan senyawa *cyanogen*. Senyawa *cyanogen* pada tanaman singkong berupa senyawa glukosida *cyanogen* yang terdiri dari linamarin dan lotaustralin. Linamarin merupakan turunan dari valine sedangkan lotaustralin merupakan turunan dari isoleucin (Zhang, dkk., 2004).

Menurut Wilson (2002), tanaman singkong umumnya dikategorikan menjadi dua jenis yaitu pahit dan manis, tergantung pada kandungan sianidanya.

1. Singkong manis, memiliki HCN yang rendah yaitu kurang dari 50 ppm.
2. Singkong pahit memiliki HCN yang tinggi yaitu lebih dari 100 ppm.

Menurut Winarno (1997), batas aman kandungan HCN adalah sekitar 0,5-3,5 mg HCN/kg berat bahan, sedangkan jumlah HCN di dalam umbi, menurut FAO cukup aman bila kurang dari 50 mg/kg umbi kering.

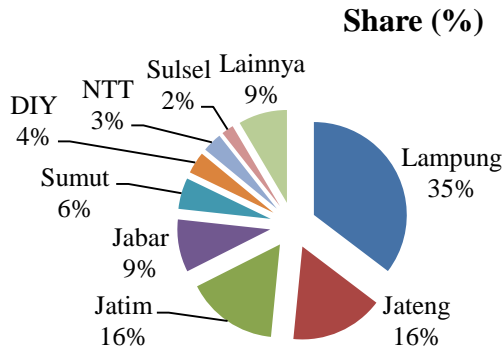
II.1. Singkong (*Manihot esculenta*) dan Pemanfaatannya

Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan tanaman perdu. Penyebaran tanaman singkong di Nusantara terjadi pada sekitar tahun 1914-1918, yaitu saat terjadi

kekurangan atau sulit pangan. Tanaman singkong dapat tumbuh dengan baik pada daerah yang memiliki ketinggian sampai dengan 2.500 m dari permukaan laut (Yuwono, 2016).

Menurut Kementerian Pertanian (2015), sentra produksi singkong di Indonesia adalah Jawa Timur, Jawa Tengah, Jawa Barat, Sumatera Utara, Daerah Istimewa Yogyakarta, Nusa Tenggara Timur, Sulawesi Selatan, Lampung dan lainnya. Provinsi Lampung dengan rata-rata produksi mencapai 8,45 juta ton cukup dominan berada di urutan pertama dengan share produksi mencapai 35,33% seperti terlihat pada Gambar II.1.

Beberapa varietas singkong yang dikeluarkan pemerintah berupa varietas unggul yang dilepas tahun 1978 yang memiliki rasa enak dan kualitas rebus yang baik, seperti : Adira-1, Malang-1, dan Darul Hidayah. Sisanya, termasuk Adira-4 yang dilepas tahun 1987 dan sampai sekarang masih cukup luas ditanam petani namun memiliki rasa pahit.



Gambar II.1 Provinsi Sentra Produksi Ubi Kayu di Indonesia, Rata-rata Tahun 2011-2015

Singkong biasa dijadikan makanan pokok di berbagai belahan dunia. Di Nigeria contohnya, dilaporkan menjadi produsen tertinggi (sekitar 34 juta ton) dari singkong di dunia (FAO, 2006). Produk-produk hasil olahan bervariasi tergantung pada budaya

orang-orang mengolahnya. Berikut berbagai produk dari olahan singkong:

1. Bioetanol

Bioetanol adalah etanol yang dihasilkan dari fermentasi glukosa (gula) menggunakan bantuan ragi/*yeast* terutama jenis *Saccharomyces cerevisiae*. Bioetanol dapat dihasilkan dari bahan bergula (molasses, aren dan nira lain), bahan berpati (singkong, jagung, sagu, dan jenis umbi lainnya), dan bahan berserat (lignoselulosa).

Pada proses pembuatan bioetanol langkah pertama yaitu membuat bubur pati. Setelah itu menambahkan bakteri *Saccharomyces cerevisiae* sebanyak 10% dari total bubur pati yang terdapat dalam wadah fermentasi sedikit demi sedikit sambil diaduk agar tercampur rata. Kemudian menutup rapat wadah fermentasi untuk mencegah kontaminasi dan bakteri *Saccharomyces cerevisiae* akan bekerja secara optimal. Fermentasi berlangsung anaerob yaitu tak memerlukan udara dan tetap menjaga suhunya pada 30°C - 40°C.

Proses fermentasi berlangsung selama 2-3 hari dan setelah itu larutan pati akan berubah menjadi 3 lapisan yaitu lapisan terbawah berupa endapan protein, dan di atasnya adalah air dan etanol. Pisahkan larutan etanol dengan endapan protein dengan melakukan proses penyaringan. Hasilnya yaitu larutan etanol yang masih mengandung air siap untuk diproses ke tahap selanjutnya yaitu proses destilasi (Mailool, dkk., 2013).

2. Lafun

Lafun adalah produk fermentasi lokal dari Nigeria yang mengalami dua jenis fermentasi: fermentasi terendam dan fermentasi anaerob selama 72 jam. Di daerah barat daya Nigeria, singkong dikonsumsi dalam bentuk tepung pasta yang dicampur air panas disebut Lafun. Lafun berwarna putih seperti yang terlihat pada gambar Gambar II.2.



Gambar II.2 Tepung Lafun

Tepung ini dibuat dengan merendam umbi yang sudah dikupas dalam air agar terfermentasi dengan sendirinya. Lafun diproduksi dengan fermentasi terendam umbi yang sudah dikupas selama 3 sampai 5 hari atau dengan mencelupkan umbi baik yang sudah dikupas atau belum ke dalam aliran air atau dalam tembikar lalu difermentasi sampai lunak. Kemudian biasanya tepung dimasukkan dalam air mendidih untuk dikonsumsi dengan sup. Bakteri-bakteri yang bekerja yaitu *Corynebacterium manihot*, *Lactobacillus sp*, dan *Leuconostoc sp* (Ogunnaike, dkk., 2015).

3. Gari

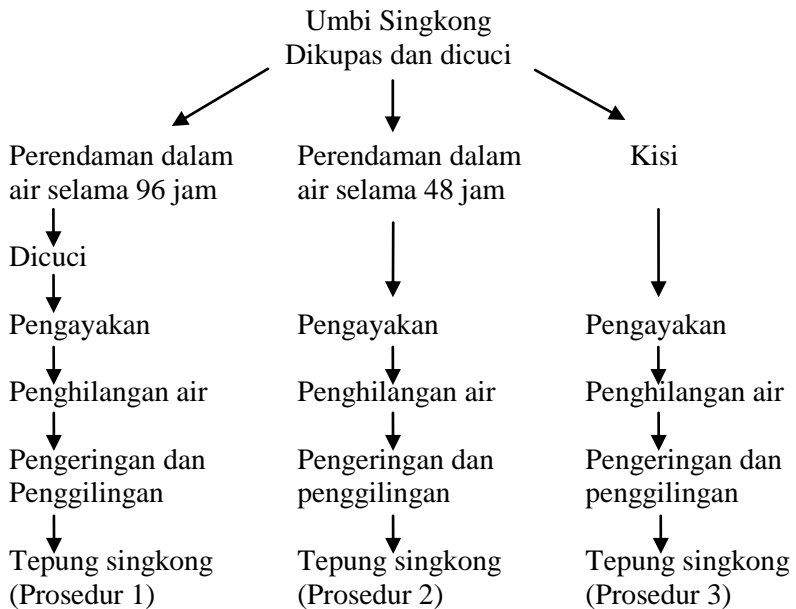
Di Afrika Barat dan bagian dari Karibia, makanan granular dikenal sebagai gari seperti pada Gambar II.3. Gari dapat diproduksi dengan cara yaitu umbi singkong dikupas, dilumatkan, dan ditekan menggunakan press hidrolik, kemudian bubur singkong difermentasi (Vlavanou, 1998). Kemudian ditambahkan *Saccharomyces cerevisiae* sebagai starter dan larutan nutrisi 730 ml [urea (80 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (7g), KH_2PO_4 (13g) dan asam sitrat (20g)] dan kemudian dibiarkan fermentasi selama 3 hari. Produk yang diperoleh kemudian diolah menjadi gari. Gari ini diproduksi dengan menekan bubur singkong hasil fermentasi menggunakan press mekanik yang dibuat secara lokal dan kemudian digoreng dalam sebuah piring logam panas (Obob dan Akindahunsi, 2003).



Gamba II.3 Tepung Gari

4. Foo-foo

Fufu adalah produk makanan fermentasi singkong dari Nigeria. Salah satu masalah pada pembuatan fufu adalah rasa dari produknya, yang mungkin tidak disukai oleh banyak orang. Terdapat beberapa cara pembuatan fufu seperti pada Gambar II.4 (Akomas, dkk., 2006).



Gambar II.4 Urutan Operasi pada Pembuatan Tepung Singkong Fufu

5. Tape

Tape merupakan salah satu makanan tradisional Indonesia yang dihasilkan dari proses fermentasi bahan pangan berkarbohidrat atau sumber pati, yang melibatkan ragi di dalam proses pembuatannya (Astawan, 1991). Singkong dibungkus dengan daun dan dilunakkan dengan proses fermentasi seperti pada Gambar II.5. Dalam proses fermentasi tape, digunakan beberapa jenis mikroorganisme seperti *Saccharomyces Cerevisiae*, *Rhizopus oryzae*, *Endomycopsis burtonii*, *Mucor sp.*, *Candida utilis*, *Saccharomycopsis fibuligera*, *Pediococcus*, dsb (Ganjar, 2003). Proses fermentasi yang berlangsung selama pembuatan tape terdiri dari tiga tahap penguraian yaitu : (1) molekul-molekul pati akan dipecah menjadi 10 dekstrin dan gula-gula sederhana, merupakan proses hidrolisis enzimatik, (2) gula-gula yang terbentuk akan diubah menjadi asam-asam organik dan alkohol, (3) asam organik akan bereaksi dengan alkohol membentuk citarasa tape yaitu ester (Hidayat, 2006).



Gambar II.5 Tape Singkong

6. Kpo-kpo Garri

Keripik singkong (kpo-kpo garri) populer dikonsumsi di wilayah Niger Delta Nigeria, diproduksi dengan fermentasi *mash* untuk jangka waktu yang berbeda. Fermentasi dikenal untuk meningkatkan umur simpan, tekstur, rasa, aroma, kualitas gizi dan pencernaan. Hal ini juga menyebabkan penurunan kandungan anti-nutrisi dari produk (Oyewole, dkk., 2012). Keripik singkong (kpo-kpo garri) diproduksi di Nigeria khususnya di wilayah Niger Delta. Hal ini dibuat dengan menggunakan proses modifikasi dari produksi garri (Adeyemi dan Balogh, 1985).

II.2. Singkong Karet (*Manihot glaziovii*) dan Pemanfaatannya

II.2.1 Singkong Karet (*Manihot glaziovii*)

Hapsari (2013) menyatakan bahwa Singkong karet (*Manihot glaziovii*) merupakan singkong beracun yang mengandung CN⁻ yang bersifat racun dengan kandungan karbohidrat mencapai 98,5%. Singkong Karet merupakan salah satu jenis singkong yang memiliki senyawa beracun sianida (CN⁻) sehingga dalam kehidupan sering tidak termanfaatkan dan tidak diperjualbelikan oleh masyarakat.

Menurut Suprpti (2005), dalam sistematika (taksonomi) tanaman singkong jenis ini diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisio	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisio	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Euphorbiales</i>
Famili	: <i>Euphorbiaceae</i>
Genus	: <i>Manihot</i>
Species	: <i>Manihot glaziovii</i>



Gambar II.6 Umbi Singkong Karet

II.2.2 Pemanfaatan Singkong Karet

Singkong karet memiliki beberapa manfaat yaitu bisa digunakan sebagai bahan pembuatan bioetanol dan biogas. Produksi bioetanol dari tanaman yang mengandung pati atau karbohidrat, dilakukan melalui proses konversi karbohidrat menjadi gula (glukosa). Pati merupakan bahan utama yang dihasilkan oleh tumbuhan untuk menyimpan kelebihan glukosa

(sebagai produk fotosintesis) dalam jangka panjang. Singkong karet (*Manihot glaziovii*) mempunyai kadar karbohidrat (pati) sebesar 98,47%. Ini merupakan angka yang potensial guna pengolahan amilum menjadi etanol (Arifwan, dkk., 2016)..

Analisis komposisi mengungkapkan bahwatepung MGK dan MGMU memiliki kadar pati tinggi, sebanding dengan referensi (ME), sedangkan tepung MGB lebih berserat dengan persentase yang lebih rendah dari pati. Jumlah total pati yang diamati untuk ME menurut literatur sebesar 71-85% (Muzanilla, dkk., 2000). Pati singkong lebih disukai untuk produksi bioetanol daripada sumber lain, karena memiliki suhu gelatinisasi lebih rendah (misalnya dibandingkan dengan jagung) (Sánchez, 2008). Pati singkong bisa mudah dihidrolisis oleh dosis yang lebih rendah dari enzim dibandingkan dengan pati dari sumber lain (Ocloo, 2001).

II.2.3 Zat Nutrisi Singkong Karet, Asam Amino, Amilosa dan Amilopektin

II.2.3.1 Zat Nutrisi Singkong Karet

Umbi singkong karet memiliki ukuran yang jauh lebih besar dibanding singkong biasa. Ada berbagai penelitian mengenai pembuatan bioetanol dari singkong karet (*Manihot glaziovii*). Hal ini dikarenakan kandungan pati pada singkong karet yang tinggi. Beberapa data kandungan gizi umbi singkong karet disajikan dalam Tabel II.1. Jika dibandingkan singkong biasa, kandungan HCN singkong karet mencapai lebih dari 100 ppm sedangkan singkong biasa di bawah 50 ppm. Hal ini menjadikannya pahit dan beracun sehingga tidak bernilai ekonomis jika dijadikan olahan bahan pangan. Selain itu nilai gizi singkong karet seperti protein juga rendah, maka dari itu perlu proses pengolahan lebih lanjut untuk meningkatkan nilai gizinya.

Tabel II.1 Data Kandungan Singkong Karet (*Manihot glaziovii*)

Komponen	(Isna, 2013)	(Moshi, 2015)	
		MGK	MGMU
Berat kering (%)	-	88±0.1	89±0.8
Solid yang menguap (VS)	-	85±0.9	87±1
Air (%)	-	12±0.6	11±0.8
Abu (%)	0,47	3.9±0.7	3.1±0.8
Pati (%)	-	80±1.1	77±1.1
Lemak (%)			0,58
Karbohidrat (%)	98,47	87±1.1	90±3.0
Serat (%)	0,0067	7.0±0.4	14±3.0
Protein (%)	0,48	-	-
Nitrogen Kjeldahl (%)	-	0.75±0.0	1.62±0.1
HCN (ppm)	-	216±0.0	166±0.0
Makro dan mikronutrien (µg/g)			
Tembaga (Cu)	- 1.6±0.8	13.8±2.0	3.8±2.0
Besi (Fe)	-	10.0±5.4	50±1.7
Potassium (K) x 10 ³	-	15.7±1.6	12.1±1.5
Magnesium (Mg) x 10 ²	-	8.7±0.8	23.0±1.2
Mangan (Mn)	-	2.1±1.4	6.1±1.2
Sodium (Na)	-	2.6±1.9	7.2±1.6
Phospor (P)	-	18.8±1.9	7.5±1.9
Seng (Zn)	-	6.3±0.7	11±0.2

Manihot glaziovii Kisarawe (MGK), *Manihot glaziovii* Muheza (MGMU)

II.2.3.2 Asam Amino

Menurut Sumarno (2002), protein yang diperlukan organisme dapat diklasifikasikan menjadi dua golongan utama, ialah:

1. Protein sederhana, yaitu protein yang apabila terhidrolisis hanya menghasilkan asam amino
2. Protein terkonjugasi, yaitu protein yang dalam hidrolisis tidak hanya menghasilkan asam amino, tetapi

menghasilkan juga komponen organik ataupun komponen anorganik, yang disebut "*gugus prosthetic*".

Di samping itu protein dapat dibedakan berdasarkan pada jenis ikatan peptida antar molekul asam amino, yaitu protein primer, protein sekunder, protein tertier dan protein kuaterner.

- a. Protein primer merupakan polimer asam amino yang berbentuk rantai panjang, terdapat dalam sel hewan antara lain sebagai collagen dan elastin.
- b. Protein sekunder adalah polimer asam amino rantai polipeptida yang membentuk struktur helix seperti keratin yang terdapat dalam rambut, tanduk dan wool.
- c. Protein tertier adalah polimer asam amino dalam bentuk globuler, seperti yang terdapat dalam enzim, hormon dan protein pembawa oksigen.

(Lehninger, 1975).

Dari segi nutrisi, asam amino dapat dibedakan antara lain asam amino non esensial dan asam amino esensial. Asam amino non esensial adalah asam amino yang dapat disediakan oleh tubuh organisme melalui proses biosintesa yang rumit dari senyawa nitrogen yang terdapat dalam makanan, dan asam amino esensial, adalah asam amino yang tidak dapat disintesa oleh tubuh (Fennema, 1976).

Asam amino berfungsi sebagai substrat untuk sintesis protein dan memainkan peran lain sebagai perbaikan jaringan, sintesis hormon serta sintesis enzim yang mengkatalisis reaksi biokimia dalam sel. Pada penelitian dari Obueh dan Kolawole (2016), menunjukkan kadar asam amino di varietas singkong manis lebih tinggi dibanding varietas singkong pahit seperti pada Tabel II.2. Adanya delapan asam amino esensial dan salah satu asam amino non-esensial dalam varietas ubi kayu akan meningkatkan nilai nutrisi sehubungan dengan kandungan protein dalam ubi kayu.

Tabel II.2 Profil Asam Amino dari Varietas Singkong Manis dan Pahit

Varietas Singkong		
Parameter (g/100g)	Manis	Pahit
Arginine	12.75±0.48 ^a	8.27±0.14 ^a
Histidine	3.57±1.07 ^a	1.87±0.42 ^c
Lysine	4.15±0.20 ^a	1.85±0.06 ^a
Tryptophan	1.73±0.00 ^a	0.92±0.06 ^a
Phenylalanine	2.15±0.13 ^a	1.72±0.01 ^a
Methionine	2.39±0.05 ^a	1.97±0.06 ^b
Threonine	5.11±2.09 ^a	4.24±0.70 ^c
Leucine	18.70±5.08 ^a	16.71±2.19 ^a
Valine	13.90±7.76 ^a	8.72±0.31 ^a

Nilai-nilai yang berarti \pm standar deviasi ($n = 3$); berarti di baris yang sama untuk masing-masing varietas dengan *superscript* yang sama tidak berbeda nyata ($P > 0,05$).

II.2.3.3 Amilosa dan Amilopektin

Tapioka berasal dari umbi ubi kayu (*Manihot esculanta*) yang diambil patinya melalui proses penggilingan umbi ubi kayu, dekantasi, pemisahan (Dziedzic dan Kearsley, 1995). Dalam bentuk aslinya secara alami pati merupakan butiran-butiran kecil yang sering disebut granula. Pati tersusun paling sedikit oleh tiga komponen utama yaitu amilosa, amilopektin dan material antara seperti protein dan lemak. Umumnya pati mengandung 15–30% amilosa, 70–85% amilopektin. Struktur dan jenis material antara tiap sumber pati berbeda tergantung sifat-sifat botani sumber pati tersebut (Greenwood, dkk., 1979).

Amilosa

Amilosa merupakan bagian polimer dengan ikatan α -(1,4) dari unit glukosa dan pada setiap rantai terdapat 500-2000 unit D-glukosa, membentuk rantai lurus yang umumnya dikatakan sebagai linier dari pati. Dalam masakan, amilosa memberikan efek keras bagi pati (Hee-Young An, 2005).

Amilopektin

Sedangkan amilopektin adalah polimer berantai cabang dengan ikatan α -(1,4)-glikosidik dan ikatan α -(1,6)-glikosidik di tempat percabangannya. Setiap cabang terdiri atas 25-30 unit D-glukosa. Dalam produk makanan, amilopektin bersifat merangsang terjadinya proses mekar (*puffing*) dimana produk makan yang berasal dari pati yang kandungan amilopektinnya tinggi akan bersifat ringan, porus, garing dan renyah.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Yuwono, dkk., (2013) menunjukkan bahwa kadar amilosa MOCAF lebih besar bila dibandingkan dengan kadar amilosa pada tepung beras Tabel II.3.

Tabel II.3 Karakteristik Bahan Baku

Parameter	MOCAF	Tepung Beras
Kadar Air (%)	6,15	9,68
Kadar Pati (%)	70,6	71,47
Kadar Amilosa (%)	26,77	19,75
Kadar Oksalat (%)	-	-

II.2.4 Zat Anti-Nutrisi Singkong Karet

Seperti singkong biasa, spesies singkong karet juga menghasilkan HCN. Jumlah bervariasi tergantung pada daerah tumbuh dan varietas, namun dapat mencapai 1000 mg/kg. Pengeringan dengan sinar matahari menurunkan HCN ke 300 mg/kg berat kering (Salviano, 1988). Singkong karet adalah salah satu jenis singkong yang mengandung senyawa beracun HCN berkadar tinggi, sehingga tidak diperjual belikan dan kurang dimanfaatkan masyarakat (Arifwan, dkk., 2016). Menurut Moshi (2014) singkong karet mengandung HCN lebih dari 100 ppm sehingga singkong ini termasuk singkong beracun. Maka dari itu belum banyak pemanfaatan dari umbi singkong karet.

II.3 *Lactobacillus plantarum*

Bakteri *L. plantarum* merupakan bakteri asam laktat dari famili *Lactobacillaceae* dan genus *Lactobacillus*. Bakteri ini

bersifat gram positif, non motil, dan berukuran 0,6-0,8 μm x 1,2-6,0 μm . Bakteri ini memiliki sifat antagonis terhadap mikroorganisme penyebab kerusakan makanan seperti *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, dan gram negatif. *L. plantarum* bersifat toleran terhadap garam, memproduksi asam dengan cepat dan memiliki pH optimum 5,3-5,6 (Buckle, dkk., 1987).

Klasifikasi *Lactobacillus plantarum* antara lain :

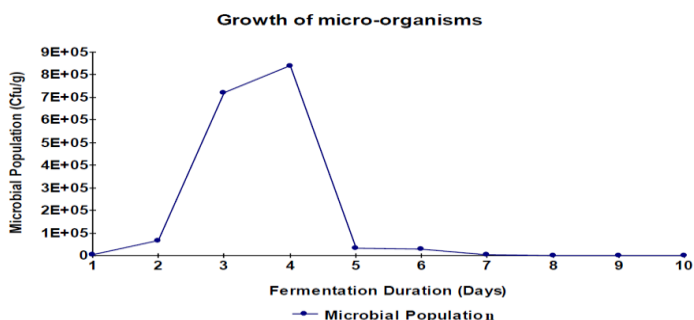
Kingdom	: Bakteri
Phylum	: <i>Firmicutes</i>
Class	: <i>Bacilli</i>
Ordo	: <i>Lactobacillales</i>
Family	: <i>Lactobacillaceae</i>
Genus	: <i>Lactobacillus</i>
Spesies	: <i>Lactobacillus plantarum</i>



Gambar II.7. Bentuk *Lactobacillus plantarum*

Bakteri *L. plantarum* umumnya lebih tahan terhadap keadaan asam dan oleh karenanya menjadi lebih banyak terdapat pada tahapan terakhir dari fermentasi tipe asam laktat. Fermentasi dari *L. plantarum* bersifat homofermentatif sehingga tidak menghasilkan gas (Buckle, dkk., 1987). Bakteri *L. plantarum* terutama berguna untuk pembentukan asam laktat, penghasil hidrogen peroksida tertinggi dibandingkan bakteri asam laktat lainnya dan juga menghasilkan bakteriosin yang merupakan senyawa protein yang bersifat bakterisidal (Sumich, 1992).

Bakteri *Lactobacillus plantarum* seperti pada Gambar II.7 dapat tumbuh dan bekerja optimum pada suhu 28 – 32°C pada pH \pm 6.5 (Wzorek, 2003). Pertumbuhan mikroorganisme selama fermentasi mash singkong dalam empat hari pertama fermentasi, ada peningkatan yang signifikan ($p < 0,05$) dalam populasi organisme mikro dari $5,2 \times 10^3$ cfu / ml untuk $8,4 \times 10^5$ cfu / g. Ada sedikit penurunan untuk $2,8 \times 10^4$ cfu/g pada hari ketujuh dan penurunan bertahap menjadi $3,0 \times 10^2$ cfu / g pada akhir periode fermentasi. Dua hari pertama merupakan fase lag dari pertumbuhan mikroba sedangkan hari ketiga dan keempat muncul untuk mewakili fase log yang dibuktikan dengan peningkatan pesat dari populasi mikroba. Hari 5-7 mewakili fase diam sementara ke delapan sampai ke sepuluh merupakan fase kematian.



Gambar II.8. Kurva Pertumbuhan Bakteri *Lactobacillus plantarum* (Oduah, 2015)

Efek inhibisi sianida pada asam laktat bakteri lemah karena bakteri ini mentolerir konsentrasi sianida tinggi hingga 800 ppm, sedangkan pertumbuhan bakteri lain, seperti *E. coli*, benar-benar dihambat oleh konsentrasi sianida dari 2 sampai 3 ppm (Knowles, 1976). Menurut Giraud (1993), melaporkan bahwa pertumbuhan bakteri laktat strain dihambat oleh konsentrasi sianida dekat dengan 1.000 ppm.

II.4. Fermentasi

Fermentasi mempunyai pengertian suatu proses terjadinya perubahan kimia pada suatu substrat organik melalui aktivitas enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme. Untuk bisa hidup semua mikroorganisme membutuhkan sumber energi yang diperoleh dari metabolisme bahan pangan dimana mikroorganisme berada di dalamnya. Bahan baku energi yang paling banyak digunakan oleh mikroorganisme adalah glukosa. Dengan adanya oksigen beberapa mikroorganisme mencerna glukosa dan menghasilkan air, karbon dioksida, dan sejumlah besar energi (ATP) yang digunakan untuk tumbuh. Ini adalah metabolisme tipe *aerobic* (Suprihatin, 2010).

Akan tetapi beberapa mikroorganismes dapat mencerna bahan baku energinya tanpa adanya oksigen dan sebagai hasilnya bahan baku energi ini hanya sebagian yang dipecah. Bukan air, karbon dioksida, dan sejumlah besar energi yang dihasilkan, tetapi hanya sejumlah kecil energi, karbon dioksida, air, dan produk akhir metabolisme organik lain yang dihasilkan. Zat-zat produk akhir ini termasuk sejumlah besar asam laktat, asam asetat, dan etanol, serta sejumlah kecil asam organik volatil lainnya, alkohol dan ester dari alkohol tersebut. Pertumbuhan yang terjadi tanpa adanya oksigen sering dikenal sebagai fermentasi (Suprihatin, 2010).

Menurut Hersoelistyorini (2010), fermentasi dapat meningkatkan nilai gizi bahan yang berkualitas rendah serta berfungsi dalam pengawetan bahan dan merupakan suatu cara untuk menghilangkan zat anti nutrisi atau racun yang terkandung dalam suatu bahan makanan. Secara umum fermentasi dibagi menjadi dua model utama yaitu:

1. Fermentasi Media Cair (*Liquid State Fermentation*, LSF)

Fermentasi media cair (LSF) diartikan sebagai fermentasi yang melibatkan air sebagai fase kontinyu dari sistem pertumbuhan sel bersangkutan atau substrat baik sumber karbon maupun mineral terlarut atau tersuspensi sebagai partikel – partikel dalam fase cair. Fermentasi cair meliputi

fermentasi minuman anggur dan alkohol, fermentasi asam cuka, yogurt dan kefir. Fermentasi media cair teknik tradisional tidak dilakukan pengadukan. Fermentasi media cair modern dilengkapi dengan pengadukan agar media tetap homogen, aerasi, pengaturan suhu (pendinginan dan pemanasan), dan pengaturan pH. Proses fermentasi media cair modern dapat dikontrol lebih baik dan hasil lebih uniform serta dapat diprediksi. Fermentasi media cair modern tidak dilakukan sterilisasi, namun pemanasan, perebusan, dan pengukusan mematikan banyak mikroba kompetitor.

2. Fermentasi Media Padat (*Solid State Fermentation* / SSF)

Fermentasi media padat (*Solid State Fermentation* / SSF) adalah proses pertumbuhan mikroba pada partikel-partikel padat dan lembab, dimana ruang antar partikelnya berisi fase gas yang bersifat kontinyu sedangkan fase cairnya bersifat diskontinyu dengan membentuk droplet-droplet air pada ruang antar partikel atau lapisan tipis pada permukaan partikel.

Menurut kebutuhan oksigennya, ada tiga macam metode fermentasi yang dapat digunakan pada singkong yaitu:

1. Fermentasi aerobik: Fermentasi ini biasanya dilakukan dengan menjemur singkong pada sinar matahari selama 1-2 jam, kemudian fermentasi dilakukan dengan menutupnya dengan daun selama 3-4 hari. Setelah fermentasi selesai baru kemudian dijadikan tepung.
2. Fermentasi anaerobik: Fermentasi ini biasanya dilakukan dengan memasukkan singkong ke dalam wadah dengan keadaan tertutup rapat.
3. Fermentasi dengan merendam singkong tersebut (*submerged fermentation*).

Tabel II.4 Perbandingan Hasil Fermentasi Rendaman
(*Submerged*) dan Anaerobik

Parameter	Tepung Hasil Fermentasi Rendaman	Tepung Hasil Fermentasi Anaerobik
pH	4.82±0.01	4.70±0.00
TTA (% asam laktat)	0.18±0.01	0.13±0.00
HCN (mg/100 g)	1.30±0.14	1.28±0.00
Air (% wb)	14.60±0.07	11.60±0.07
Abu (%db)	0.80±0.00	0.13±0.01
Serat (%db)	1.49±0.01	0.80±0.01
Protein (%db)	1.83±0.01	1.78±0.01
Karbohidrat (%)	81.28±0.01	85.69±0.14

db untuk sampel kering, wb untuk sampel basah

Pada penelitian Ogunnaike, dkk., (2015) seperti pada Tabel II.4, tidak ada perbedaan signifikan antara produk fermentasi rendaman dan anaerobik. Menurut Suprihatin (2010), berdasarkan sumber mikroorganisme proses fermentasi dibagi 2 (dua) yaitu:

- 1. Fermentasi spontan**, adalah fermentasi bahan pangan dimana dalam pembuatannya tidak ditambahkan mikroorganisme dalam bentuk starter atau ragi, tetapi mikroorganisme yang berperan aktif dalam proses fermentasi berkembang baik secara spontan karena lingkungan hidupnya dibuat sesuai untuk pertumbuhannya, dimana aktivitas dan pertumbuhan bakteri asam laktat dirangsang karena adanya garam, contohnya pada pembuatan sayur asin.
- 2. Fermentasi tidak spontan** adalah fermentasi yang terjadi dalam bahan pangan yang dalam pembuatannya ditambahkan mikroorganisme dalam bentuk starter atau ragi, dimana mikroorganisme tersebut akan tumbuh dan berkembang biak secara aktif merubah bahan yang difermentasi menjadi produk yang diinginkan, contohnya pada pembuatan tempe dan oncom.

II.5. MOCAF (*Modified Cassava Flour*)

Modified cassava flour (MOCAF) merupakan produk turunan dari tepung singkong yang menggunakan prinsip modifikasi sel singkong secara fermentasi. Mikroba yang tumbuh pada singkong akan menghasilkan enzim pektinolitik dan selulolitik yang dapat menghancurkan dinding sel singkong sedemikian rupa sehingga terjadi pembebasan granula pati. Proses pembebasan granula pati ini akan menyebabkan perubahan karakteristik dari tepung yang dihasilkan berupa naiknya viskositas, kemampuan gelasi, daya rehidrasi, dan kemudahan melarut. Selanjutnya granula pati tersebut akan mengalami hidrolisis menghasilkan monosakarida sebagai bahan baku untuk menghasilkan asam-asam organik. Senyawa asam ini akan bercampur dalam tepung, sehingga ketika tepung tersebut diolah akan menghasilkan aroma dan cita rasa yang khas yang dapat menutupi aroma dan cita rasa singkong yang cenderung tidak disukai konsumen.

Kondisi saat ini menunjukkan bahwa produk MOCAF secara ekonomis ternyata jauh lebih murah daripada produk terigu yang selama ini beredar di pasaran. Bahan baku yang mudah dibudidayakan, murah nya harga ubi kayu di pasaran saat ini, serta proses pengolahan tepung yang tidak memerlukan teknologi tinggi, membuat harga Mocaf saat ini hanya berkisar antara 40-60% dari harga terigu. Hal ini membuat produk jadi apapun yang dihasilkan dari Mocaf ini akan lebih menguntungkan dibandingkan dengan tepung terigu (Subagio, dkk.,2008). Beberapa data kandungan MOCAF dan tepung terigu ditampilkan pada Tabel II.5.

Tabel II.5 Perbandingan Kandungan MOCAF, Laufun, Garri dan Tepung Terigu

No	Parameter	<i>Modifeid Cassava Starch</i> (Sulistyo dan Nakahara, 2014)	<i>Lafun</i> pasaran (Ogunnaike , dkk., 2015)	Garri (Obi, dkk., 2015)	MOCAF (Gunawan, dkk., 2015)	Tepung Terigu (Kent, 1983)
1	Energi total	354,7 kcal/100g	-	-	-	340 kal/100 g
2	pH	-	4,65±0,07	3,40±0,00	-	-
3	Air (%)	11,51	12,6±0,14	9,10±0,00	-	12
4	Abu (%)	0,44	1±0,14	1,80±0,01	-	0,46
5	Lemak (%)	2,85	-	3,10±0,02	-	1,2
6	Protein (%)	2	1,94±0,01	3,05±0,03	8,58±0,31	11,8
7	Karbohidrat (%)	86,99	82,46±0,14	42,50 ±0,05	-	74,5
8	Pati (%)	-	-	-	55,4±0,49	-
9	Viskositas	70 cp	324,08±0,28 RVU	-	-	-
10	Serat (%)	1,32	2±0,14	1,08±0,02	-	-
11	Derajat asam	2,67ml NaOH/100 g	0,22±0,01	0,04±0,00	-	-
12	HCN (mg/g)	-	13,2±0,01	1,60±0,01	1,8±0,03	-

Tepung MOCAF memiliki prospek pengembangan yang bagus untuk dikembangkan di Indonesia. Pertama, dilihat dari ketersediaan ubi kayu yang berlimpah sehingga kemungkinan

kelangkaan produk dapat dihindari karena tidak tergantung dari impor seperti gandum. Kedua, harga tepung mocaf relatif lebih murah dibanding dengan harga tepung terigu maupun tepung beras sehingga biaya pembuatan produk dapat lebih rendah (Nugraheni dan Utama, 2015).

Namun demikian, produk ini tidaklah sama persis karakteristiknya dengan tepung terigu, beras atau yang lainnya. Sehingga dalam aplikasinya diperlukan sedikit perubahan dalam formula, atau prosesnya sehingga akan dihasilkan produk yang bermutu optimal. Produk MOCAF yang diproduksi juga harus sesuai dengan standar yang berlaku seperti pada Tabel II.6.

Tabel II.6 Syarat Mutu Komposisi Tepung MOCAF dan Tepung Terigu

Parameter	Tepung MOCAF ¹⁾	Tepung Terigu ¹⁾	Tepung MOCAF ²⁾
Air (%)	Maks 13	Maks 14.5	Maks 13
Protein (%)	Min 7.0	Min 7.0	-
Abu (%)	Maks 1.5	Maks 0.7	Maks 3
Serat (%)	Maks 2.0	Maks 2.0	Maks 2
Derajat Asam	Maks 4.0	Maks 5.0	-
	(mL NaOH 1N/100g)	(mg KOH/100g)	
HCN (mg/kg)	Maks 10	Maks 10	Maks 10
Residu Pestisida	-	-	Sesuai dengan aturan yang berlaku
Logam Berat	-	-	Tidak terdeteksi
Bahan Tambahan	-	-	Tidak terdeteksi

Sumber: 1) SNI, 2009 2) CODEX STAN 176-1989

Tabel II.6 menunjukkan dua macam parameter MOCAF yang berbeda yaitu SNI dan CODEX STAN 176-1989. Namun dari keduanya terlihat ada beberapa kesamaan standar yang digunakan, terutama untuk kadar HCN yakni 10 mg/kg untuk dapat dikonsumsi oleh konsumen. Sedangkan jika dibandingkan dengan parameter tepung terigu, parameter MOCAF tidak jauh berbeda.

II.6. Asam Laktat Sebagai Produk Samping MOCAF

Asam laktat adalah asam organik alami dengan sejarah panjang yang digunakan dalam industri farmasi, kimia dan makanan, terutama sebagai pengasam dan sebagai pengawet. Asam laktat juga merupakan sumber asam polylactic, polimer digunakan sebagai plastik *biodegradable*. D-, L- dan asam DL-laktat dapat diproduksi oleh bakteri asam laktat maupun secara sintesis. Produksi dunia mencapai 50.000 ton per tahun dengan jumlah yang sekitar sama produk dari fermentasi dan kimia sintesis (Xiaodong, dkk., 1997).

Menurut Kusumaningrum (2014), selama proses fermentasi singkong, oligosakarida yang dihasilkan diubah menjadi asam organik terutama asam laktat. Bakteri yang tumbuh pada substrat ubi kayu menunjukkan bakteri asam laktat bersifat homofermentatif dimana 95% glukosa diubah menjadi asam laktat, CO₂ dan senyawa *volatile*. Selama proses fermentasi pula, glukosa yang dihasilkan dari pendegradasian pati diubah menjadi asam organik terutama asam laktat sehingga pH menjadi rendah akibat aktivitas asam. Disebutkan pula oleh Tinay, dkk., dalam Kurniawan(2010), bahwa fermentasi ubi kayu jenis pahit mengakibatkan pH turun dari 6.0 menjadi 3.8 dan keasaman meningkat dari 0,111% menjadi 0,802 % selama 192 jam (8 hari) fermentasi.

II.7. Studi Penelitian Sebelumnya

1. Gunawan, S., Widjaja, T., Zullaikah, S., Ernawati, L., Istianah, N., Aparamarta, H.W. and Prasetyoko, D. (2015)

Beberapa peneliti telah berfokus pada fermentasi singkong dengan nutrisi tambahan untuk meningkatkan detoksifikasi dan meningkatkan kualitas singkong (Kimaryo dan Massawe, 2000; Muzanila, 2000; Oboh, dkk., 2002; Oboh dan Akindah, 2003, 2005). Namun, variabilitas mikroorganisme (bakteri, ragi dan jamur berfilamen) dan waktu fermentasi masih tetap tidak diketahui. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk menghasilkan MOCAF tanpa nutrisi tambahan pada mikroorganisme yang sesuai dalam waktu yang cukup singkat. Komposisi dan kandungan mineral proksimat dari MOCAF juga dibahas secara sistematis. Proksimat komposisi singkong segar kering adalah $1,93 \pm 0,04\%$ protein, $0,66 \pm 0,01\%$ lipid, $4,24 \pm 0,05\%$ serat, $0,69 \pm 0,03$ abu dan $92,48 \pm 1,14\%$ *nitrogen free extract*. Rasio karbon per nitrogen (C / N rasio) $28 \pm 1,23\%$ dan asam sianida singkong segar yang sudah dicuci adalah $17,5 \pm 1,26$ ppm.

Tepung MOCAF dapat diproduksi dengan menggunakan fermentasi *L. plantarum*, *S. cerevisiae*, dan *R. oryzae* yang murah dan non patogen untuk meningkatkan kadar protein dan menurunkan kadar asam sianida dalam tepung MOCAF. *L. plantarum* lebih efisien daripada *S. cerevisiae*, dan *R. oryzae*. Asam laktat diproduksi sebagai produk selama fermentasi.

Tabel II.7 Hasil Perbandingan Fermentasi dengan Tiga Macam Mikroorganisme

Waktu Fermentasi, jam	Kadar Asam Sianida, mg/kg			Kadar Protein, % berat		
	<i>L. plantarum</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>R. oryzae</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>R. oryzae</i>
24	7.50±0.12	7.60±0.02	8.10±0.01	2.94±0.29	1.39±0.11	1.96±0.01
48	3.60±0.16	4.05±0.01	4.35±0.03	4.07±0.10	2.10±0.14	2.05±0.04
72	3.40±0.06	3.85±0.01	3.78±0.01	5.56±0.58	2.12±0.12	2.33±0.04
96	3.00±0.02	3.30±0.04	3.27±0.04	6.84±0.29	2.14±0.13	3.50±0.01
120	1.80±0.03	3.28±0.01	3.17±0.04	8.58±0.31	2.29±0.24	4.72±0.01

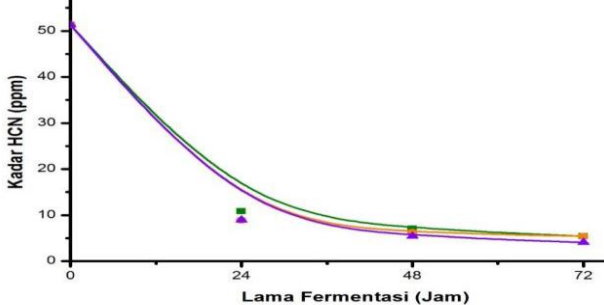
3. Shinta Nastiti, Firdaus Syarifah (2015)

Singkong mempunyai kandungan HCN atau toksisitas yang tinggi. Toksisitas disebabkan oleh glukosida sianogenik, linamarin, dan lotaustraloin yang berada pada seluruh bagian tumbuhan, kecuali pada biji.

Sebagai bentuk pertahanan dari predator, singkong menghasilkan dua glikosida sianoganik, yaitu linamarin dan metil linamarin. Rasa pahit pada singkong merupakan akibat dari linamarin. Apabila singkong yang kita konsumsi masih mengandung sianogen dalam jumlah yang besar akan berakibat pada rasa pusing, sakit perut, diare, dan dapat menimbulkan kematian (Mlingi, dkk., 1992; Akintonwa, dkk., 1990). Maka dari itu, sebelum dikonsumsi singkong hendaknya diproses terlebih dahulu untuk mengurangi kadar racun sianogen. Fermentasi adalah salah satu metode yang dapat mengurangi glikosida sianoganik pada singkong (Salim, 2011).

Berdasarkan hasil analisis, diperoleh kadar HCN pada tepung MOCAF hasil fermentasi seperti pada gambar II.9. Kadar HCN pada singkong tanpa fermentasi dan pencucian adalah 135 ppm, sedangkan kadar HCN singkong setelah pencucian adalah

sebesar 51.3 ppm. Setelah fermentasi dengan penambahan 10 juta sel/mL *Lactobacillus plantarum*, kadar HCN tepung MOCAF setelah fermentasi selama 24, 48 dan 72 jam berturut-turut adalah 10,8 ; 7,02 dan 5,4 ppm. Dengan penambahan 20 juta sel/mL, kadar HCN menjadi 8,91 ; 6,21 dan 5,4 ppm. Sedangkan dengan penambahan 30 juta sel/mL, kadar HCN turun menjadi 8,91 ; 5,4 dan 4,05 ppm.



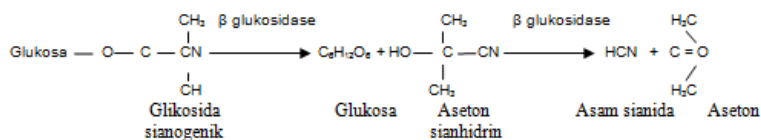
Gambar II.9 Grafik Penurunan Kadar HCN Tepung MOCAF

Berdasarkan standar SNI (2009), kadar HCN maksimum yang terkandung pada tepung MOCAF adalah 10 mg/kg atau 10 ppm. Sehingga hasil penelitian ini menunjukkan bahwa tepung MOCAF yang aman untuk dikonsumsi adalah pada fermentasi selama 48 dan 72 jam.

Sebelum difermentasi, singkong terlebih dahulu mengalami proses perendaman selama ± 30 menit. Pada proses ini, senyawa linamarin akan terhidrolisis (bereaksi dengan air) dan membentuk asam sianida yang larut dalam air dan mudah menguap sehingga kadar linamarin dapat diturunkan melalui proses perendaman. Selama proses hidrolisis yang dilakukan oleh β -glukosidase pada glukosida sianogenik menghasilkan sebagian gula dan hidroksinitril yang akan kembali terpisahkan atau secara enzimatis menjadi sianida dan campuran karbonil yakni ketosa dan aldosa (Frehner, 1995). Selain itu, proses pengeringan dengan oven berpengaruh dalam menurunkan kadar sianida di dalam bahan, karena sianida akan teruapkan selama pengeringan berlangsung. Proses pemecahan linamarin yang terdapat pada

umbi kayu oleh enzim linamarase menjadi glukosa dan senyawa aseton sianohidrin (aglikon) kemudian melepaskan asam sianida dan aseton terjadi secara spontan pada suhu $> 35^{\circ}\text{C}$ (Sirtunga, 2003).

Reaksi pembentukan asam sianida dari glikosida sianogenik secara umum dapat dilihat pada persamaan reaksi berikut:



3. Clement Abriba (2012)

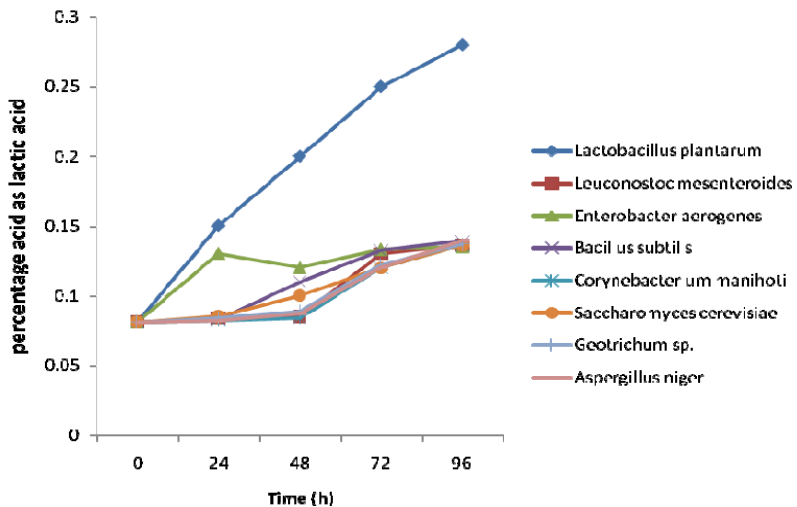
Strain mikroba yang diisolasi berikut hari fermentasi disajikan di atas meja 1 dan 2. Sebanyak 8 strain diisolasi, ini adalah: *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*, *Corynebacterium manihoti*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Enterobacter aerogenes*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum sp.* dan *Saccharomyces cerevisiae*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa suksesi *Bacillus subtilis* dan *Lactobacillus plantarum* mendominasi di semua hari fermentasi. *Bacillus subtilis* membentuk spora yang tahan, yang dapat mentolerir kondisi buruk dan dapat bertahan hidup di lingkungan yang merugikan selama beberapa hari (Brook, dkk., 1998). Kelangsungan hidup *Lactobacillus plantarum* pada hari ke-3 dan 4 dikarenakan fakta bahwa itu mentolerir kondisi asam (Asiedu, 1992). *Corynebacterium manihoti*, *Leuonostoc mesenteroide* diisolasi di hari ke-1, *Enterobacter aerogenes* di hari ke-2, ini karena kontaminan maka mereka tidak bisa bertahan hidup di luar hari 2.

Aspergillus niger dominan untuk jamur isolat *Saccharomyces cerevisiae*, *Geotrichum sp.* diisolasi di hari ke-1 dan 3 masing-masing. Kehadiran berlimpah *Aspergillus niger* selama fermentasi mungkin sebagai akibat dari kemampuan

mereka untuk bersporulasi berat dan menyebarkan spora mereka dengan mudah dan juga banyak tersebar (Khoo, dkk., 1994).

Perubahan pH, TTA dengan penggunaan panel sensorik untuk menunjukkan pengurangan bau, tekstur fermentasi singkong umbi oleh strain diisolasi ditunjukkan pada Gambar II.10. *Lactobacillus plantarum* dilakukan penurunan pH 6,1-3,66 setelah 96 jam fermentasi. *Bacillus subtilis* dipengaruhi peningkatan sedikit awal di pH yang kemudian menurun menjadi 4,90 pada akhir fermentasi. Pengurangan dilakukan dengan *Corynebacterium manihoti*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Enterobacter aerogenes*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum sp.* dan *Saccharomyces cerevisiae* adalah: 4,67, 4,68, 4,67, 5,82, 5,80 dan 4,69 masing-masing. *Lactobacillus plantarum* menghasilkan peningkatan tertinggi di TTA (*total titratable acid*) konten dari 0,081% pada jam ke-0 menjadi 0,280% setelah 96 jam. Kemampuan isolat lainnya untuk mempengaruhi produksi asam yang subtilis relatif rendah *Bacillus*, *Corynebacterium manihoti*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Enterobacter aerogenes*, *Aspergillus niger*, *Geotrichum sp.* dan *Saccharomyces cerevisiae* meningkatkan TTA dari 0,081% pada 0 jam menjadi 0,139%, 0,136%, 0,136%, 0,136%, 0,139%, 0,137% dan 0,136% masing-masing setelah 96 jam periode fermentasi. Oyewole (1992), sebelumnya telah melaporkan bahwa strain *Lactobacillus plantarum* terkait dengan produksi asam tinggi selama singkong fermentasi untuk produksi foofoo. Pandangan ini didukung oleh kondisi asam menghasilkan kemampuan yang relatif rendah dari isolat lainnya terlibat dalam fermentasi.



Gambar II.10 Grafik Hubungan Waktu dan Kandungan Asam Laktat

4. Nazaruddin Ramli, Siti Radhiah Omar, Shubha Sri Ramakrishnan. (2012)

Uji *L. plantarum* dari isolasi dari biji kakao yang difermentasi. Bakteri kemudian diinokulasi di 9 ml steril Lactobacilli MRS *broth* yang mengandung pepton dan dekstrosa. Kultur diinkubasi semalam pada suhu 37° C sebelum disimpan pada -80 °C. Sebuah serial pengenceran dengan faktor pengenceran 10-1 sampai 10-8 stok kultur *L. plantarum* dilakukan untuk tiga jenis rasio, yang 1:1, 1:20 dan 1:300. Untuk setiap rasio, sembilan tabung reaksi berisi 9 ml air pengenceran steril disiapkan, dan 1 mL *L. plantarum* dari stok kultur ditambahkan ke dalam tabung reaksi pertama. Untuk setiap rasio, 0,1 ml pengenceran dari 10-4 sampai 10-8 ditanam di MRS agar dan diinkubasi semalam pada 37 °C (Susan dkk., 1983).

Dosis *L. plantarum* disiapkan menurut pengenceran sebelumnya. Tiga konsentrasi dosis *L. plantarum* diperoleh dari

tiga rasio (1:1, 1:20, 1:300). Dosis tinggi diperoleh dari rasio 1:1, dosis menengah diperoleh dari rasio 1:20, dan dosis rendah adalah diperoleh dari rasio 1:300. *Dark chocolate* mengandung dosis *L. plantarum* dipersiapkan untuk 28 hari percobaan. Cokelat dicairkan dan ditempatkan dalam mesin pencampuran selama dua jam sampai mencapai 33°C untuk menstabilkan *liquid*. Cokelat leleh ditimbang sebanyak 99 gr dan dicampur dengan 33 ml *liquid* encer menurut rasio. Cokelat kemudian dibagi menjadi 3 g per porsi.

Sebuah dosis mematikan (LD50) ditentukan dalam tiga dosis yang telah disiapkan dari tikus *S. Dawley*. dibagi menjadi empat kelompok. Profil darah ditentukan oleh tes hematologi (jumlah sel darah merah, sel darah putih, hemoglobin dan trombosit), sebuah uji fungsional hati melibatkan enzim alanin aminotransferase (ALT), aspartate aminotranferase (AST), alkali fosfat (ALP) dan tes ginjal (urea dan kreatinin). Darah diambil melalui reaksi kapiler setelah 28 hari dari bereksperimen dan diserahkan ke laboratorium toksikologi dianalisis menggunakan analisis hematologi Boule Medoric CA500-16 VET. Serum dari sampel darah diperoleh melalui vena cava posterior. Darah ditempatkan ke dalam anti-koagulan tabung dan disentrifugasi pada 2.500 x g selama 15 menit pada suhu 4°C sebelum dianalisis oleh darah analyzer kimia Vitalab Selectra E (Norliza 2004).

Tidak ada tingkat toksisitas yang dapat dilihat dengan AST dan ALP dalam darah karena hasil yang diperoleh masih dalam dosis tikus *S. Dawley* dewasa normal, yaitu sekitar 60-300 IU / L dan 85-245 IU / L, masing-masing. Pada penelitian tersebut tidak ada perbedaan signifikan yang terjadi sebelum dan sesudah dalam darah tikus. Maka dapat disimpulkan bahwa *L. plantarum* tidak berbahaya untuk dikonsumsi (Ramli, dkk., 2012)

BAB III

METODOLOGI PERCOBAAN

III.1 Variabel Penelitian

1. Waktu Fermentasi : 12, 24 dan 36 jam
2. Konsentrasi bakteri : 7×10^{10} , 7×10^{11} , $1,5 \times 10^{12}$ dan $3,5 \times 10^{12}$ sel *Lactobacillus plantarum* / mL

III.2 Kondisi Operasi

1. Suhu Fermentasi : 32°C
2. Tekanan : 1 atm
3. Singkong yang digunakan : 150 gr (tiap variabel)

III.3 Respon

1. Kurva pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*
2. Grafik Kadar HCN
3. Grafik Kadar Protein
4. Grafik Kadar Pati
5. Grafik Kadar Amilosa
6. Grafik Kadar Amilopektin

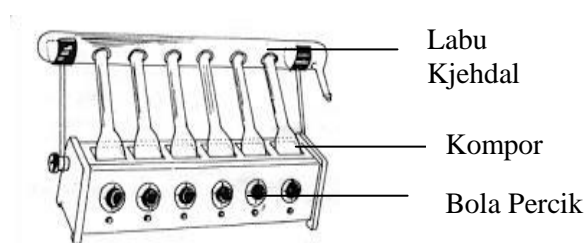
III.4 Bahan yang Digunakan

- | | |
|----------------------------------|-----------------------------------|
| 1. Singkong Karet | 10. KOH |
| 2. H_2SO_4 0,1 N | 11. HCl |
| 3. <i>Lactobacills plantarum</i> | 12. KI 5% |
| 4. Tabel Kjeldahl | 13. H_2SO_4 0,1 N |
| 5. <i>Aquadest</i> | 14. AgNO_3 0,02 N |
| 6. CCl_4 | 15. Diethyl eter |
| 7. Larutan NaCl 1% | 16. NaOH 25% |
| 8. Aseton | 17. Etanol 10% |
| 9. Larutan NaOH | 18. NH_4OH |
| | 19. NaOH 0,1 N |

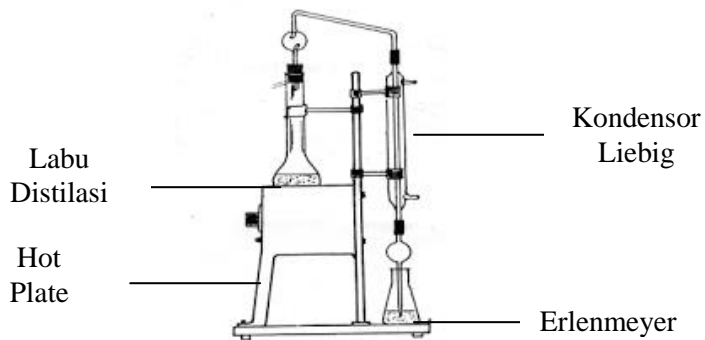
III.5 Alat yang Digunakan

- | | |
|----------------------|-----------------------|
| 1. Ember | 22. Furnace |
| 2. Pisau | 23. Botol fermentasi |
| 3. Pamarut Singkong | 24. Neraca analitis |
| 4. Oven | 25. Mikroskop |
| 5. Labu Kjeldahl | 26. Deck glass |
| 6. Soklet Ekstraktor | 27. Hemasitometer |
| 7. Erlenmeyer | 28. Botol sampel |
| 8. Stirer Magnetik | 29. Kassa |
| 9. Labu Alas Bulat | 30. Eksikator |
| 10. Kondensor Liebig | 31. <i>Cruss</i> tang |
| 11. Hot Plate | 32. Corong buchner |
| 12. Beaker Glass | 33. Labu distilasi |
| 13. Buret | 34. Crusher |
| 14. Statif | 35. Petridish |
| 15. Pipet volume | 36. Pengaduk kaca |
| 16. Pipet tetes | 37. Tabung reaksi |
| 17. Termometer | 38. Labu distilasi |
| 18. Kertas saring | 39. Sumbat Karet |
| 19. Gelas ukur | 40. Kertas karbon |
| 20. Spatula | |
| 21. Gelas arloji | |

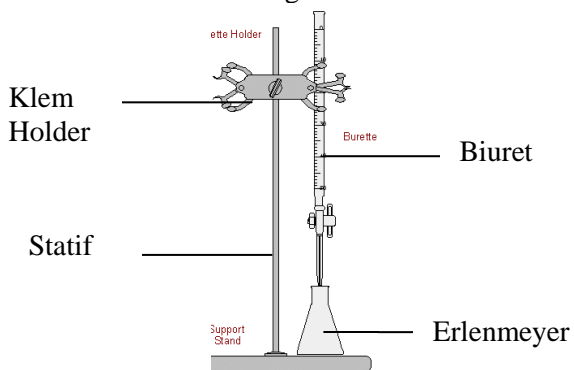
III.6 Gambar Alat



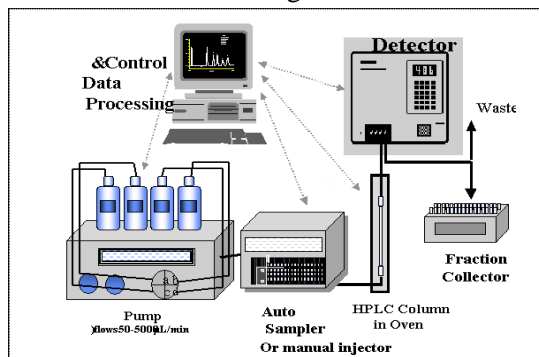
Gambar III.1 Rangkaian Alat Dekstruksi Protein



Gambar III.2 Rangkaian Alat Distilasi



Gambar III.3 RangkaianAlatTitrasi



Gambar III.4 Rangkaian Sistem HPLC



Gambar III.5 Spektrofotometer



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

Gambar III.6 (a) *Incubator Shaker* (b) *Inkubator* (c) *Oven*
(d) *Hemacytometer* (e) *Mikroskop* (f) *Centrifuge*

III.7 Prosedur Penelitian

III.7.1 Pembuatan MOCAF

III.7.1.1. Persiapan Bahan dan Analisa Proksimat Awal

Pertama, memilih singkong karet yang masih segar sehingga kandungan proksimatnya masih dalam kondisi yang baik. Kemudian singkong dikupas kulit luarnya. Singkong yang sudah bersih dari kulitnya kemudian dicuci pada air mengalir dengan suhu $\pm 28^{\circ}\text{C}$. Kemudian dilakukan analisa proksimat pada sebagian singkong karet. Selanjutnya singkong karet dipotong menjadi bentuk chip dengan ketebalan 0,5-1 cm untuk memperbesar luas permukaan.

III.7.1.2. Pembuatan Starter

Pertama dilakukan sterilisasi terhadap semua alat dan bahan (aquadest dan media NB cair) yang akan digunakan dalam pembuatan starter serta fermentasi singkong karet. Tahap sterilisasi dilakukan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama kurang lebih 15 menit. Setelah itu, masukkan 15 ml NB cair dan 135 ml aquadest ke dalam Erlenmeyer dan tambahkan bakteri *Lactobacillus plantarum* ke dalam media. Kemudian diinkubasi sampai pertumbuhan bakteri pada fase log yaitu selama 16 jam inkubasi. Setelah itu starter yang terbentuk digunakan untuk fermentasi dengan volume starter yang digunakan sesuai dengan variabel jumlah sel bakteri *Lactobacillus plantarum*/mL.

III.7.1.3. Proses Fermentasi

Starter yang telah dibuat pada tahap sebelumnya dimasukkan ke dalam botol fermentasi dengan volume starter yang ditambahkan berbeda-beda sesuai dengan jumlah bakteri *Lactobacillus plantarum* yang dikehendaki. Volume starter yang ditambahkan yaitu sebesar 10 mL untuk variabel 7×10^{10} sel/mL, 100 mL untuk variabel 7×10^{11} sel/mL, 150 mL untuk variabel $1,05 \times 10^{12}$ sel/mL dan 500 mL untuk variabel $3,5 \times 10^{12}$. Kemudian diinkubasi di dalam incubator sesuai dengan waktu yang ditentukan pada variabel, yaitu 12, 24, 36 jam. Pada proses

fermentasi ini, suhu dijaga agar konstan, yaitu pada 32°C. Untuk satu variabel, singkong yang digunakan sebanyak 150 gram kemudian ditambah dengan starter sesuai dengan variabel.

III.7.1.4. Proses Penepungan

Pada proses penepungan ini diawali dengan pengeringan singkong hasil fermentasi dalam oven pada suhu 45°C selama ± 4 jam. Kemudian digiling sampai halus dan menjadi tepung dengan menggunakan crusher. Setelah itu diayak dengan ukuran 100 mesh untuk menyeragamkan ukuran tepung MOCAF.

III.7.2. Perhitungan Jumlah Sel Mikroorganisme

Perhitungan jumlah sel mikroorganisme ini menggunakan metode *counting chamber*. Pertama-tama, mengambil 1 ml sampel. Kemudian dilarutkan dalam 10 ml aquadest ke dalam tabung reaksi dan diaduk hingga homogen. Selanjutnya, sampel diambil menggunakan pipet tetes dan ditetaskan pada hemasitometer kemudian ditutup dengan *deck glass*. Setelah itu, hemasitometer diletakkan di bawah mikroskop yang dilanjutkan dengan menghitung jumlah sel yang terdapat pada kotak A, B, C, D dan E.

Dengan menggunakan rumus :

$$a. \text{jumlah sel bakteri rata-rata} = \frac{\text{jumlah sel ABCDE}}{5}$$

$$b. \text{jumlah sel bakteri}$$

$$= (a) \times \frac{1}{0.0025 (\text{luas bidang hitung})} \frac{\text{sel}}{\text{mm}^2}$$

$$c. \text{jumlah sel bakteri}$$

$$= \frac{(b)}{0.1 \text{ ketebalan counting chamber}} \frac{\text{sel}}{\text{mm}^3}$$

$$d. \text{jumlah sel} \frac{\text{bakteri}}{\text{ml}} \text{ sampel} = (c) \times 1000 \frac{\text{sel}}{\text{ml sampel}}$$

III.7.3. Analisa Kadar Pati (AOAC, 2005)

Untuk menganalisa kadar pati, mula-mula 2 gram sampel ditambah dengan 50 mL aquades dan diaduk selama 1 jam. Selanjutnya, padatan disaring menggunakan kertas saring dan dicuci dengan menggunakan aquades sampai menghasilkan 250 mL; filtrate dan residu yang tertinggal pada kertas saring kemudian dicuci dengan 10 mL dietil eter. Selanjutnya melakukan pencucian lagi menggunakan 150 mL etanol 10%. Residu pada kertas saring dipindahkan dalam Erlenmeyer dengan pencucian menggunakan 200 mL aquades dan ditambahkan 20 mL HCl kemudian dipanaskan di atas titik didihnya dengan *water bath* selama 2.5 jam. Setelah didinginkan, sampel dinetralisasi dengan 500 mL larutan NaOH 45% dan disaring dengan kertas saring. Selanjutnya, kandungan gula pada filtrate dianalisa menggunakan metode Nelson-Somogyi. Dari metode tersebut, didapatkan *glucose content*. Persentase pati dapat ditentukan dengan mengalikan *glucose content* dengan 0.9 (*factor number*).

III.7.4. Analisa Kadar Protein (AOAC, 2005)

Analisa kadar protein, sebanyak 0.5 gram sampel dimasukkan ke dalam labu Kjeldahl kemudian ditambahkan tablet Kjeldahl sebanyak $\frac{1}{4}$ bagian dan ditambah lagi dengan 10 ml H_2SO_4 pekat. Setelah itu, labu tersebut dipanaskan dengan pemanas labu Kjeldahl dalam ruang asam. Pemanasan dihentikan jika larutan sudah tidak berasap dan warna larutan menjadi hijau/kuning jernih (sekitar 1,5 jam). Kemudian labu kjeldahl dibiarkan sampai dingin.

Selanjutnya, memasukkan 50 mL aquades ke dalam labu destilasi yang telah diisi dengan batu didih (pecahan kaca) kemudian menuangkan larutan yang ada di dalam labu Kjeldahl ke dalam labu destilasi. Labu Kjeldahl dibilas dengan 50 ml aquades sedikit demi sedikit. Tahapan proses berikutnya adalah menambahkan 30 mL larutan NaOH 40% sedikit demi sedikit lalu ditutup dengan sumbat karet dan digoyang-goyang secara pelan (usahakan tidak ada uap yang keluar dari labu destilasi).

Kemudian, sebanyak 25 mL H_2SO_4 0.1 N dan 3 tetes indicator metal merah dimasukkan ke dalam erlenmeyer.

Setelah itu, larutan di dalam labu di distilasi hingga larutan dalam labu distilasi tinggal 1/3 bagian. Uap NH_3 yang keluar ditampung di dalam erlenmeyer yang berisi larutan H_2SO_4 yang telah ditetesi indikator. Kemudian hasil distilasi yang ditampung dalam Erlenmeyer dititrasi menggunakan NaOH 0.1 N sampai terjadi perubahan warna dari merah muda ke jingga.

Membuat blanko yang terdiri dari larutan 25 mL H_2SO_4 0.1 N dan 3 tetes indicator metal merah kemudian dititrasi dengan larutan NaOH 0.1 N hingga terjadi perubahan warna.

$\% \text{ crude protein} = 6.25 \times \% \text{ N}$

$$\% \text{ N} = \frac{\text{titer blanko} - \text{titer sampel} \times N \times 0.014}{\text{Berat sampel}} \times 100\%$$

III.7.5. Analisa Kadar HCN (AOAC, 2005)

Untuk analisa kadar HCN, pertama menimbang sampel sebanyak 20 gram dan menambahnya dengan 100 mL aquades kemudian meletakkannya pada labu distilasi. Setelah itu, dilakukan perendaman selama ± 2 jam. Kemudian menambahkannya lagi dengan 100 mL aquades kemudian melakukan distilasi dengan uap (steam). Distilat ditampung dalam Erlenmeyer berisi 20 mL NaOH 2.5%.

Setelah distilat mencapai 150 mL, ditambahkan 8 mL NH_4OH , 5 mL KI 5% dan dititrasi dengan 0.02 N AgNO_3 sampai terjadi kekeruhan (untuk mengetahuinya, letakkan kertas karbon hitam di bawah labu titrasi).

Berat HCN (ppm)

$$= \frac{\text{ml liter (blanko} - \text{sampel)}}{\text{ml liter blanko}} \times \frac{20 \times N \text{ AgNO}_3}{\text{kg sampel}} \times 0.54 \text{ mg}$$

III.7.6. Analisa Kadar Lemak (AOAC, 2005)

Analisa kadar lemak dilakukan dengan metode sokhlet. Prinsipnya adalah lemak yang terdapat dalam sampel diekstrak dengan menggunakan pelarut lemak non polar. Prosedur analisa kadar lemak sebagai berikut: labu lemak yang akan digunakan dioven selama 30 menit pada suhu 100-105°C, kemudian didinginkan dalam desikator untuk menghilangkan uap air dan ditimbang (A). Sampel ditimbang sebanyak 2 gram (B) lalu dibungkus dengan kertas saring, ditutup dengan kapas bebas lemak dan dimasukkan ke dalam alat ekstraksi sokhlet yang telah dihubungkan dengan labu lemak yang telah dioven dan diketahui bobotnya. Pelarut heksan atau pelarut lemak lain dituangkan sampai sampel terendam dan dilakukan refluks atau ekstraksi lemak selama 5-6 jam atau sampai pelarut lemak yang turun ke labu lemak berwarna jernih. Pelarut lemak yang telah digunakan, disuling dan ditampung setelah itu ekstrak lemak yang ada dalam labu lemak dikeringkan dalam oven bersuhu 100-105 °C selama 1 jam, lalu labu lemak didinginkan dalam desikator dan ditimbang (C). Tahap pengeringan labu lemak diulangi sampai diperoleh bobot yang konstan.

Kadar lemak dihitung dengan rumus:

$$\% \text{ lemak total} = C - A \times 100 \% B$$

Keterangan:

A= berat labu alas bulat kosong dinyatakan dalam gram

B= berat sampel dinyatakan dalam gram

C= berat labu alas bulat dan lemak hasil ekstraksi dalam gram

III.7.7. Analisa Asam Amino

Hidrolisis protein dalam suasana asam

Sampel yang telah diliofilisasi sampai kering, ditimbang tepat 5,00 mg, dihidrolisis dengan HCl 6N dengan penambahan 1 ml larutan merkapto etanol 5 ppm v/v dalam HCl pekat selama 24 jam pada t=110°C. Sisa HCl dihilangkan dengan penghampaan, pada t=60°C. Setelah kering dilarutkan dalam dapar sitrat (pH 2,2) sebanyak 5,0 mL dan disaring dengan penyaring Millipore

5µm hingga didapat filtrat dan hasil pencucian 7 mL, kemudian diencerkan sampai 10,0 mL. Filtrat ini dianalisis kandungan asam aminonya dengan cara kromatografi cair kinerja tinggi.

Penetapan Kadar Asam Amino dengan HPLC "off-line" dengan peraksi OPA

Asam amino dalam 10 µl filtrat direaksikan dengan OPA dalam suasana alkalis (dapar borat pH 9,1) dengan adanya merkaptotetanol pada suhu kamar. Derivat asam amino yang dihasilkan dipisah dalam kolom RP-C18 dengan dua eluen: (a) methanol-tetrahidrofuran(THF)-dapar asetat (20:2,5:77,5) pH 5,9 dan (b) metanol-THF-dapar asetat (80:2,5:17,5) pH 5,9, yang diatur secara bertingkat. Intensitas fluoresensi derivat asam amino-OPA diukur dengan detektor fluorometer.

III.7.8. Analisa Kadar Amilosa dan Amilopektin

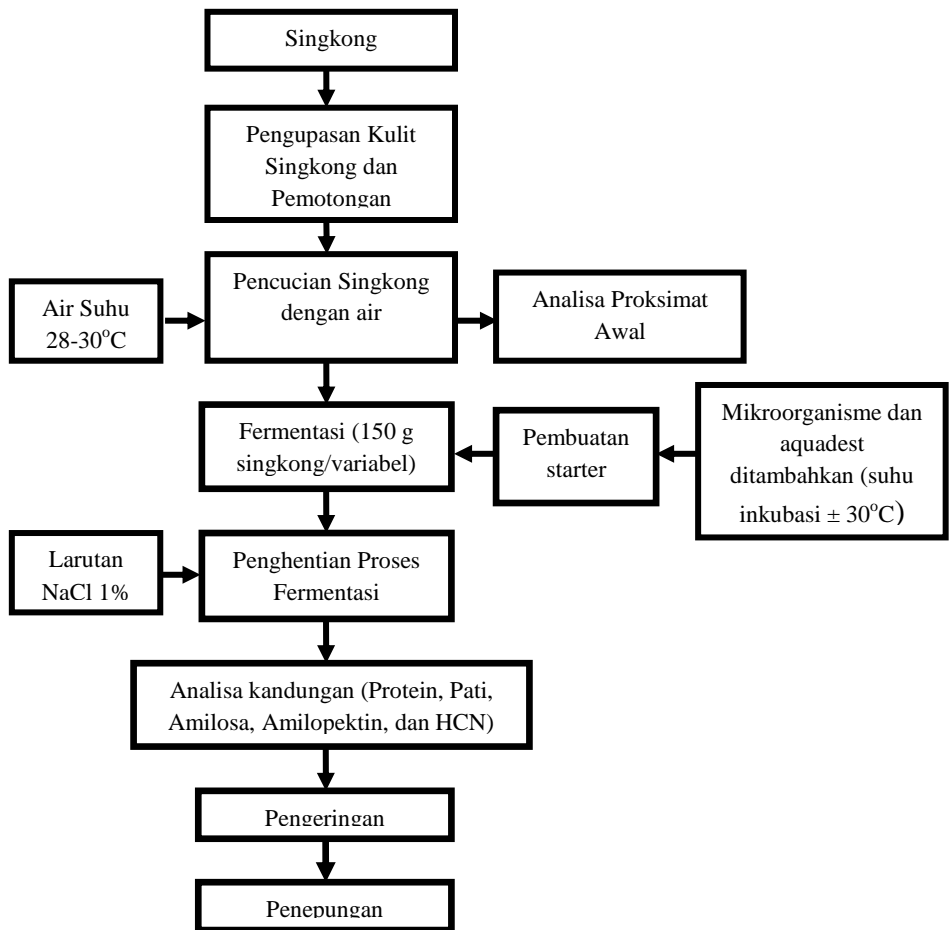
III.7.8.1 Analisa Kadar Amilosa

Sampel ditimbang 100 mg sampel dalam bentuk tepung dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan 1 mL etanol 95% dan 9 mL NaOH 1N. Dipanaskan dalam air mendidih 10 menit sampai terbentuk gel dan didinginkan. Gel dimasukkan ke dalam labu takar 100 mL dan volume ditepatkan dengan aquadest sampai tanda tera. Dipipet 5 mL larutan, masukkan dalam labu takar 100 mL tambahkan asam asetat 1N, 2 mL larutan iod dan aquadest sampai 100 ml. Labu dikocok sampai homogen dan didiamkan selama 20 menit. Intensitas warna biru yang terbentuk diukur dengan spektrofotometer dengan panjang gelombang 625 nm.

III.7.8.2 Analisa Kadar Amilopektin

Analisis kadar amilopektin menggunakan metode *by different* dari hasil analisis pati dan amilosa sebelumnya. Kadar amilopektin (%b/b) = kadar pati (%) – kadar amilosa (%)

III.8 Flowchart Prosedur Penelitian



Gambar III.7 Skema Prosedur Penelitian

BAB IV

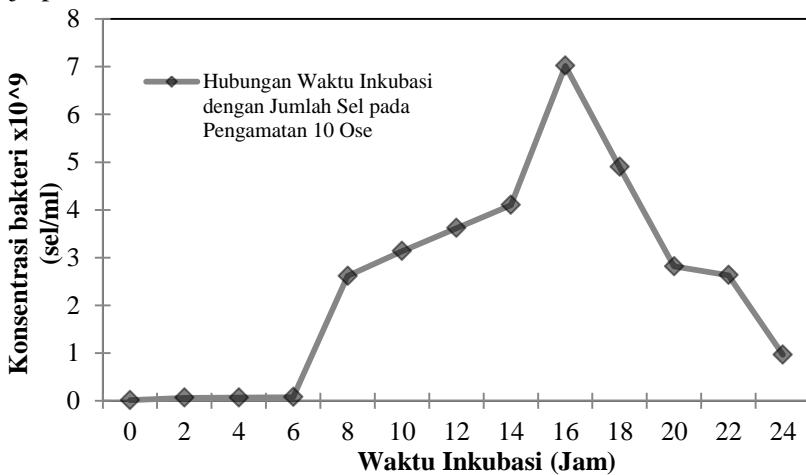
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Singkong merupakan tanaman tropis, produktif dan mudah dibudidayakan. Tanaman singkong dikategorikan menjadi dua jenis yaitu pahit (*Manihot esculenta*) dan manis (*Manihot dulcis*). Jenis singkong yang digunakan pada penelitian ini adalah singkong karet (*Manihot glaziovii*) yang merupakan singkong liar yang memiliki senyawa beracun berupa sianida (CN⁻), sehingga tidak dimanfaatkan dan tidak diperjualbelikan oleh masyarakat. Akar tanaman ini bersifat keras dan kaya pati, namun memiliki zat gizi seperti protein yang rendah. Oleh karena itu untuk menurunkan kadar sianida dan menaikkan zat gizinya dilakukan proses fermentasi. Jenis fermentasi yang digunakan adalah fermentasi terendam (*submerged fermentation*) dan tidak spontan dengan penambahan mikroorganisme berupa *Lactobacillus plantarum*. Bakteri *Lactobacillus plantarum* digunakan dalam penelitian ini karena termasuk bakteri non patogen (Gunawan, dkk., 2015). Selain itu bakteri asam laktat salah satunya *Lactobacillus plantarum* mudah diaplikasikan dan menghasilkan produk fermentasi yang aman dikonsumsi (Leroy, dkk., 2004).

IV.1 Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme

Pembuatan kurva kalibrasi pertumbuhan mikroorganisme menggunakan metode *counting chamber*, yang bertujuan untuk menentukan jumlah mikroorganisme (*Lactobacillus plantarum*) yang digunakan dalam fermentasi. Perhitungan jumlah sel dilakukan setiap 2 jam selama 24 jam. Hal ini dikarenakan bakteri *Lactobacillus plantarum* telah mengalami peningkatan pertumbuhan pada rentan waktu kurang dari 5 jam (Horn, 2005). Kurva pertumbuhan bakteri digunakan untuk mengetahui waktu yang dibutuhkan bakteri menuju fase logaritmik, yang kemudian akan digunakan sebagai variabel konsentrasi starter pada proses fermentasi.

Terdapat empat fase pertumbuhan bakteri yaitu fase adaptasi, fase log, fase stationer dan fase kematian. Fase adaptasi merupakan fase bakteri menyesuaikan diri dengan lingkungan. Fase logaritmik yaitu pembiakan bakteri berlangsung cepat, sel-sel membelah dan jumlahnya meningkat secara logaritma sesuai dengan pertambahan waktu. Fase stationer yaitu keadaan seimbang antara laju pertumbuhan dengan laju kematian. Kemudian fase kematian dimana laju kematian bakteri melampaui laju pembiakan bakteri.



Gambar IV.1 Kurva Pertumbuhan *Lactobacillus plantarum*

Kurva pertumbuhan bakteri dibuat dengan inkubasi mikroorganisme sebanyak 10 ose pada suhu 32°C , kemudian dihitung jumlah sel yang bergerak menggunakan metode *counting chamber* dimana jumlah mikroorganisme yang ada dihitung dengan pengamatan melalui mikroskop. Fase adaptasi dihasilkan pada jam ke-0 hingga jam ke-6. Sedangkan fase logaritmik berlangsung pada jam ke-6 hingga jam ke-16. Pada fase pertumbuhan bakteri menunjukkan hasil yang berbeda dengan penelitian-penelitian sebelumnya dimana fase adaptasi pada penelitian Smetankova, dkk., (2012) untuk suhu 37°C dan

45⁰C terjadi pada jam ke-0 hingga jam ke-2, fase logaritmik/eksponensial terjadi pada jam ke-2 hingga jam ke-8 dan fase eksponensial ini menjadi lebih lama pada suhu 30⁰C hingga jam ke-10 dengan MRS broth sebagai media tumbuh. Menurut Gunawan, dkk., (2015), fase adaptasi terjadi pada jam ke-0 sampai ke-12. Sedangkan fase logaritmik berlangsung pada jam ke-12 hingga jam ke-24. Untuk fase adaptasi yang diperoleh Gunawan, dkk., (2015) sesuai dengan penelitian Istighfarah dan Delphia (2016). Sedangkan fase logaritmik pada penelitian Istighfarah dan Delphia (2016), berlangsung pada jam ke-12 hingga jam ke-20.

Ketidaksesuaian fase pertumbuhan bakteri pada penelitian ini dengan penelitian-penelitian sebelumnya dapat dikarenakan beberapa hal yaitu, pada penelitian Smetankova, dkk., (2012), perhitungan kurva pertumbuhan *Lactobacillus plantarum* dilakukan dengan cara menghitung densitas optiknya. Sedangkan pada penelitian ini kurva pertumbuhan dibuat dengan menghitung jumlah sel menggunakan metode *counting chamber*. Pada penelitian Gunawan, dkk., (2015) pembuatan starter menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum* ditambah dengan bahan berupa singkong biasa (*Manihot esculenta*), dengan pengamatan setiap 12 jam selama 96 jam dan pada penelitian Istighfarah dan Delphia (2016), bahan yang ditambahkan pada pembuatan starter berupa singkong karet (*Manihot glaziovii*) dengan pengamatan setiap 2 jam sampai 24 jam. Sedangkan pada penelitian ini, pembuatan starter hanya menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum*, tanpa penambahan bahan dan waktu pengamatan setiap 2 jam selama 24 jam.

IV.2 Proksimat Bahan Awal Singkong Karet

Analisis proksimat bahan awal dilakukan untuk mengetahui komposisi awal dari singkong karet sebelum dilakukan proses fermentasi. Singkong segar dikupas dari kulitnya kemudian dicuci dengan air. Selanjutnya dilakukan analisa kandungan Pati, Protein, Serat Kasar, Lemak, Abu, Air

dan HCN menggunakan metode AOAC (2005) serta profil asam amino pada singkong karet.

Tabel IV.1 Hasil Analisis Proksimat Awal Singkong Karet

Komponen	Kadar
Pati	81,57 (%)
Protein	1,25 (%)
Serat Kasar	1,28 (%)
Lemak	0,39 (%)
Abu	0,26 (%)
Air	13,74 (%)
HCN	338,41 (ppm)

Dari hasil analisis pada Tabel IV.1 terdapat kesesuaian karakteristik singkong karet dengan penelitian sebelumnya. Kadar Pati singkong karet pada penelitian ini sebesar 81,57%. Hasil ini tidak jauh berbeda dengan penelitian sebelumnya, dimana kadar pati yang dihasilkan sebesar $80 \pm 1,1$ % (Moshi, 2015) dan 78,89% (Istighfarah dan Delphia, 2016). Untuk kadar protein singkong karet lebih tinggi jika dibandingkan dengan Isna (2013), Istighfarah dan Delphia (2016), yang hanya menggunakan singkong karet dengan kadar protein masing-masing sebesar 0,48% dan 1,09%.

Kadar serat dan lemak pada singkong karet yang digunakan pada penelitian ini sebesar 1,28% dan 0,39%. Namun hasil yang didapatkan berbeda jika dibandingkan dengan penelitian Isna (2013) dengan kadar serat dan lemak masing-masing sebesar 0,0067% dan 0,58%. Sedangkan untuk kadar abu dan air pada singkong karet tidak jauh berbeda dengan yang digunakan oleh Isna (2013) dengan kadar abu sebesar 0,47% dan Moshi (2015) dengan dan kadar air sebesar $12 \pm 0,6$ %.

Untuk kadar HCN singkong karet yang digunakan pada penelitian ini adalah 338,41 ppm lebih tinggi dibandingkan dengan yang digunakan Moshi (2005) dengan kadar HCN sebesar $216 \pm 0,0$ ppm. Namun lebih kecil jika dibandingkan dengan kadar

HCN singkong karet yang digunakan oleh Istighfarah dan Delphia (2016) yaitu 465 ppm. Besarnya racun dan kandungan proksimat dalam setiap varietas singkong tidak konstan dan dapat berubah. Hal ini disebabkan adanya beberapa faktor yang mempengaruhi yaitu antara lain: keadaan iklim, keadaan tanah, umur singkong, cara pemupukan dan cara budidaya dari singkong yang digunakan.

Asam Amino

Asam amino adalah senyawa penyusun protein. Asam amino mempunyai satu gugus karboksil dan satu gugus amino. Asam amino berfungsi sebagai substrat untuk sintesis protein dan memainkan peran lain sebagai perbaikan jaringan, sintesis hormon serta sintesis enzim yang mengkatalisis reaksi biokimia dalam sel.

Dari segi nutrisi, asam amino dapat dibedakan menjadi asam amino non esensial dan asam amino esensial. Asam amino non esensial adalah asam amino yang dapat disediakan oleh tubuh organisme melalui proses biosintesa yang rumit dari senyawa nitrogen yang terdapat dalam makanan, dan asam amino esensial, adalah asam amino yang tidak dapat disintesa oleh tubuh (Fennema, 1976).

Tabel IV.2 Komposisi Asam Amino Singkong Karet Segar dan Gen *Lactobacillus plantarum* (GAD)

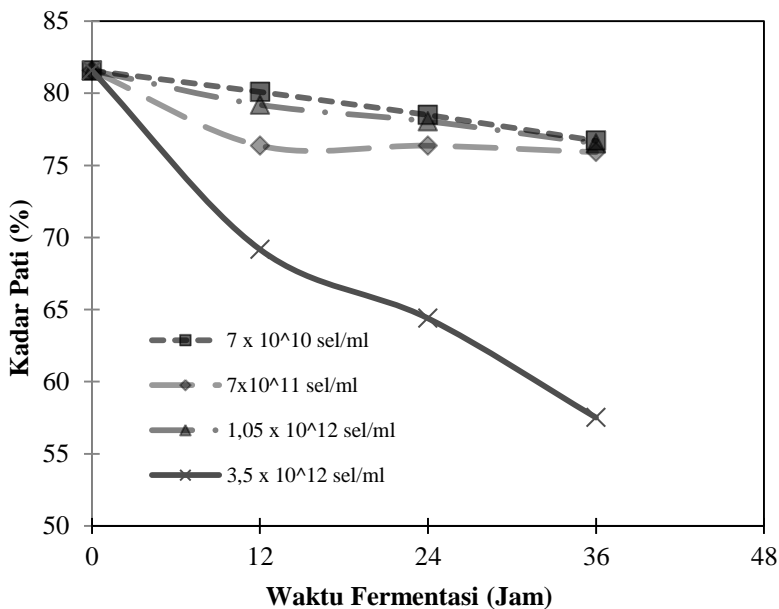
Asam Amino	Singkong Karet	<i>Lactobacillus plantarum</i> (Sui,dkk., 2016)
Alanin (%)	-	8,6
Arginin (%)	49,039	4,6
Asparagin (%)	-	4,4
Asam Aspartat (%)	-	7,1
Sistein (%)	-	1,3
Glutamin (%)	-	4,4
Asam Glutamat (%)	-	5,3
Glisin (%)	-	6,2
Histidin (%)	2,511	4,2
Isolesin (%)	-	5,5
Leusin (%)	7,225	9,5
Lisin (%)	4,457	3,5
Metionin (%)	5,741	3,8
Fenilalanin (%)	14,164	4,0
Prolin (%)	-	5,5
Serin (%)	-	3,5
Treonin (%)	-	4,2
Triptofan (%)	8,082	2,0
Tirosin (%)	2,160	4,9
Valin (%)	4,136	7,5
Pirolisin(%)	-	0,0
Selenosistein(%)	-	0,0
B (%)	-	0,0
Z (%)	-	0,0
X (%)	-	0,0
Komponen lain (%)	2,485	0,0

Dari Tabel IV.2 dapat dilihat bahwa kandungan asam amino yang banyak terdapat pada singkong karet adalah arginin. Hasil ini sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa protein pada singkong memiliki kadar arginin yang tinggi, tetapi untuk metionin, treonin, sistein, fenilalanin, isoleusin dan prolin memiliki kadar yang rendah (Onwueme, 1978). Menurut Sui, dkk., (2016), kandungan asam amino yang terdapat banyak pada *Lactobacillus plantarum* adalah leusin.

Asam amino arginin bersifat hidrofil dan polar, sangat berbeda dibandingkan dengan leusin yang bersifat hidrofob. Asam amino polar kebanyakan berada dipermukaan protein, sedangkan asam amino hidrofob hampir selalu berada dibagian dalam protein. Asam amino arginin berperan penting dalam pembelahan sel, penyembuhan luka, mengeluarkan amonia dari tubuh, fungsi kekebalan tubuh, dan pelepasan hormon. Sedangkan asam amino leusin berperan dalam menjaga perombakan dan pembentukan proetin otot.

IV. 3 Pengaruh Jumlah Sel dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Pati

Pati merupakan homopolimer glukosa dengan ikatan α -glukosidik. Pati adalah salah satu bahan penyusun yang paling banyak dan luas terdapat di alam, yang merupakan karbohidrat cadangan pangan pada tanaman. Sebagian besar pati di simpan dalam umbi (ubi kayu, ubi jalar, kentang, dll), biji (jagung, padi, gandum), batang (sagu) dan buah. Pati dapat dibagi menjadi 2 jenis, yaitu pati alami yang belum mengalami modifikasi (*Native Starch*) dan pati yang telah termodifikasi (*Modified Starch*). Pati memegang peranan penting dalam industri pengolahan pangan. Pati secara luas juga dipergunakan dalam industri seperti kertas, lem, tekstil, permen, glukosa, dekstrosa, sirop fruktosa, dan lain-lain (Zulaidah, 2012).



Gambar IV.2 Grafik Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar Pati MOCAF

Dari Gambar IV.2 dapat dilihat bahwa kadar pati dari keempat konsentrasi/jumlah mikroorganisme menurun seiring dengan bertambahnya lama waktu fermentasi (0, 12, 24 dan 36 jam). Jika waktu fermentasi terlalu lama akan mengubah kualitas dari tepung MOCAF yang dihasilkan. Hasil yang didapatkan pada variabel 7×10^{10} sel/ml kadar pati menurun dari 81,57% menjadi 80,09% pada fermentasi jam ke-12, 78,49% pada fermentasi jam ke-24 dan 76,7% pada fermentasi jam ke-36. Pada variabel 7×10^{11} sel/ml kadar pati menurun dari 81,57% menjadi 76,36% pada fermentasi jam ke-12, 76,36% pada fermentasi jam ke-24 dan 75,91% pada fermentasi jam ke-36. Pada variabel $1,05 \times 10^{12}$ sel/ml kadar pati menurun dari 81,57% menjadi 79,2% pada fermentasi jam ke-12, 78,05% pada fermentasi jam ke-24 dan 76,52% pada fermentasi jam ke-36. Pada variabel $3,5 \times 10^{12}$ sel/ml

kadar pati menurun dari 81,57% menjadi 69,17% pada fermentasi jam ke-12, 64,39% pada fermentasi jam ke-24 dan 57,51% pada fermentasi jam ke-36.

Hasil analisa yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi dan semakin banyak jumlah mikroorganisme yang digunakan, maka semakin menurun kadar pati yang diperoleh. Namun, pada variabel 7×10^{11} sel/ml menunjukkan nilai yang sama pada jam ke-12 dan jam ke-24. Hal ini disebabkan karena aktivitas mikroorganisme yang kurang optimal. Penurunan kadar pati dikarenakan bahan organik (pati) digunakan untuk memenuhi kebutuhan energi untuk pertumbuhan mikroorganisme (Ardhana, 1982). Menurut Buckle (1987), bahwa selama proses fermentasi pati dihidrolisis menjadi gula sederhana yaitu maltosa, oligosakarida dan glukosa. Pati pada singkong ini, tidak semuanya diubah oleh *Lactobacillus plantarum* menjadi glukosa, namun terlebih dahulu mengalami perubahan menjadi produk antara seperti maltosa dan oligosakarida. Selanjutnya, produk glukosa akan dikonversi menjadi asam lemak yakni asam laktat.

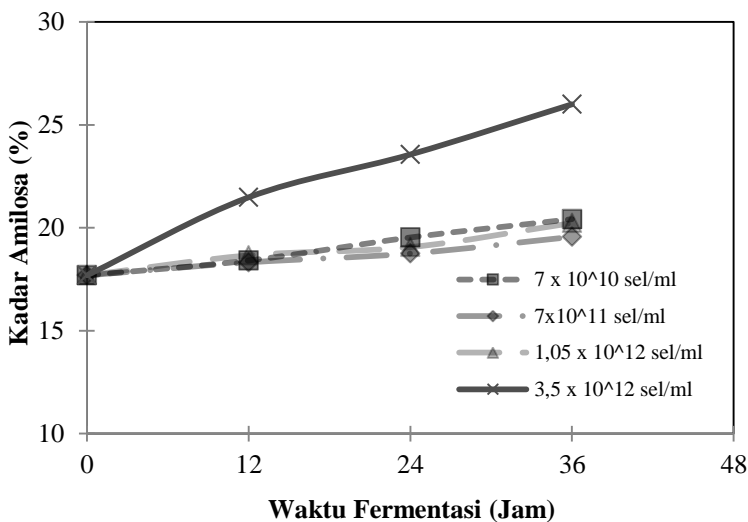
Kadar pati awal pada penelitian Gunawan, dkk., (2015), sebesar 89,4% kemudian turun menjadi $69,40 \pm 0,30\%$ yang didapat setelah fermentasi singkong menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum* (1gr) selama 120 jam. Penurunan pati dari jam ke-0 hingga jam ke-120 sebesar 37,48%. Pada penelitian Istighfarah dan Delphia (2016), dengan menggunakan konsentrasi bakteri sebanyak $1,5 \times 10^8$, 3×10^8 dan 6×10^8 sel/ml dan lama fermentasi 192 jam kadar pati menurun dari 78,89% menjadi 9,34%, 3,16% dan 2,35%. Penurunan pati pada konsentrasi tersebut masing-masing sebesar 88,16%, 95,99% dan 97,02%. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan konsentrasi bakteri sebanyak 7×10^{10} , $1,05 \times 10^{11}$, $1,05 \times 10^{12}$ dan $3,5 \times 10^{12}$ sel/ml dengan lama fermentasi 36 jam kadar pati menurun dari 81,57% menjadi 76,7%, 75,91%, 76,52% dan 57,51%. Penurunan pati pada konsentrasi tersebut masing-masing sebesar 5,97%, 6,93%, 6,19% dan 29,49%. Nilai penurunan pati berbeda jauh dengan

penelitian-penelitian sebelumnya. Hal ini disebabkan konsentrasi bakteri dan jenis singkong yang digunakan berbeda. Hasil kadar pati pada penelitian yang dilakukan tidak jauh berbeda dengan kadar pati tepung terigu yang didapatkan pada penelitian-penelitian sebelumnya Basuki, dkk., (2013) dan Imanningsih (2012), masing-masing sebesar 76,14% dan 60,33%. Sehingga tepung MOCAF potensial sebagai bahan substitusi tepung terigu dan mendukung diversifikasi pangan.

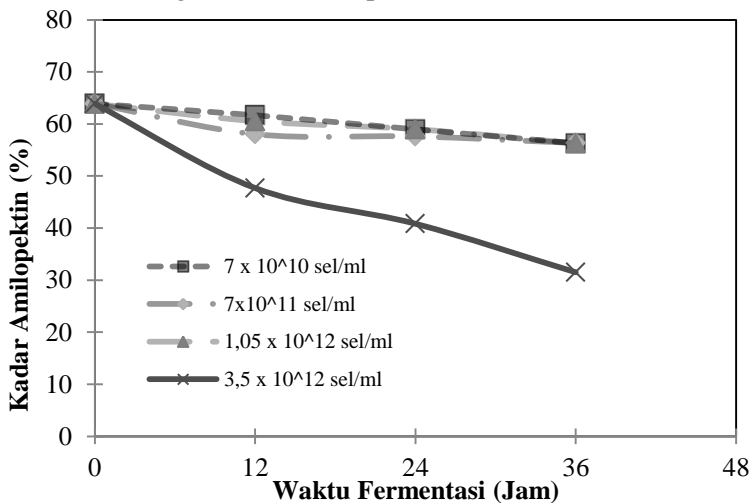
Amilosa dan Amilopektin

Granula pati tersusun paling sedikit oleh tiga komponen utama yaitu amilosa, amilopektin dan material antara seperti protein dan lemak. Umumnya pati mengandung 15–30% amilosa, 70–85% amilopektin dan 5–10% material antara (Greenwood, dkk., 1979). Fraksi terlarut disebut amilosa dan fraksi tidak larut disebut dengan amilopektin (Winarno, 2002).

Amilosa merupakan bagian polimer dengan ikatan α -(1,4) dari unit glukosa dan pada setiap rantai terdapat 500-2000 unit D-glukosa, membentuk rantai lurus yang umumnya dikatakan sebagai linier dari pati (Hee-Young An, 2005). Menurut Ariyani (2010), kandungan amilosa mempengaruhi absorpsi air pada saat pengolahan. Sejalan dengan pendapat Matz (1976), yang menyatakan bahwa kandungan amilosa pada tepung mempengaruhi daya kembang dari makanan yang dihasilkan. Tepung yang mengandung pati dengan kandungan amilosa rendah cenderung menghasilkan produk yang rapuh dengan kerapatan rendah. Sedangkan amilopektin adalah polimer berantai cabang dengan ikatan α -(1,4)-glikosidik dan ikatan α -(1,6)-glikosidik di tempat percabangannya. Setiap cabang terdiri atas 25-30 unit D-glukosa. Dalam produk makanan, amilopektin bersifat merangsang terjadinya proses mekar (*puffing*) dimana produk makanan yang berasal dari pati dengan kandungan amilopektin tinggi akan bersifat ringan, porus, garing dan renyah.



Gambar IV.3 Grafik Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar Amilosa MOCAF



Gambar IV.4 Grafik Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar Amilopektin MOCAF

Dari Gambar IV.3 dapat dilihat bahwa kadar amilosa dari keempat konsentrasi/jumlah mikroorganisme meningkat. Untuk variabel 7×10^{10} sel/ml kadar amilosa meningkat dari 17,69% menjadi 18,41% pada fermentasi jam ke-12, 19,53% pada fermentasi jam ke-24 dan 20,42% pada fermentasi jam ke-36. Untuk variabel 7×10^{11} sel/ml kadar amilosa meningkat dari 17,69% menjadi 18,32% pada fermentasi jam ke-12, 18,75% pada fermentasi jam ke-24 dan 19,56% pada fermentasi jam ke-36. Untuk variabel $1,05 \times 10^{12}$ sel/ml kadar amilosa meningkat dari 17,69% menjadi 18,66% pada fermentasi jam ke-12, 19,06% pada fermentasi jam ke-24 dan 20,23% pada fermentasi jam ke-36. Untuk variabel $3,5 \times 10^{12}$ sel/ml kadar amilosa meningkat dari 17,69% menjadi 21,48% pada fermentasi jam ke-12, 23,56% pada fermentasi jam ke-24 dan 26% pada fermentasi jam ke-36.

Dari Gambar IV.4 dapat dilihat bahwa kadar amilopektin dari keempat konsentrasi/jumlah mikroorganisme menurun. Untuk variabel 7×10^{10} sel/ml kadar amilopektin menurun dari 63,88% menjadi 61,68% pada fermentasi jam ke-12, 58,96% pada fermentasi jam ke-24 dan 56,28% pada fermentasi jam ke-36. Untuk variabel 7×10^{11} sel/ml kadar amilopektin menurun dari 63,88% menjadi 58,04% pada fermentasi jam ke-12, 57,61% pada fermentasi jam ke-24 dan 56,35% pada fermentasi jam ke-36. Untuk variabel $1,05 \times 10^{12}$ sel/ml kadar amilopektin menurun dari 63,88% menjadi 60,54% pada fermentasi jam ke-12, 58,99% pada fermentasi jam ke-24 dan 56,29% pada fermentasi jam ke-36. Untuk variabel $3,5 \times 10^{12}$ sel/ml kadar amilopektin menurun dari 63,88% menjadi 47,69% pada fermentasi jam ke-12, 40,83% pada fermentasi jam ke-24 dan 31,51% pada fermentasi jam ke-36.

Hasil analisa yang diperoleh pada kedua grafik diatas menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi, maka semakin meningkatkan kadar amilosa dan menurunkan kadar amilopektin. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian-penelitian sebelumnya (Kusumaningrum dan Sumardiono, 2012) dan (Syahputri dan Wardani, 2015). Ubi kayu yang terfermentasi pada waktu cukup lama menyebabkan air perendam mencapai keadaan

asam yang disebabkan oleh aktivitas bakteri pada saat fermentasi. Kondisi asam pada pH rendah mengakibatkan pati lebih cepat terhidrolisis pada ikatan α -(1,4) sehingga meningkatkan gugus amilosa dimana amilosa cenderung larut dalam air (Kusumaningrum dan Sumardiono, 2012). Menurut Syahputri dan Wardani (2015), kadar amilosa tepung jali terfermentasi meningkat dari 26,33% menjadi 29,06%. Peningkatan amilosa disebabkan karena putusnya rantai cabang amilopektin pada ikatan α -(1,6) glikosida dan terjadi pembentukan amilosa baru akibat aktivitas enzim saat fermentasi. Jenis bakteri asam laktat dapat menghasilkan enzim amilase dan pullulanase. Pada proses fermentasi, terjadi perombakan pati oleh mikroba *Lactobacillus plantarum*, yang menghasilkan enzim pullulanase (Nair, dkk., 2006). Pelepasan cabang (*debranching*) amilopektin oleh enzim pullulanase menghasilkan polimer glukosa rantai lurus yang merupakan amilosa dengan derajat polimerisasi (DP) lebih kecil. Enzim ini dapat digunakan untuk mendegradasi ikatan cabang 1,6 glikosida pada amilopektin dan telah digunakan untuk menghasilkan amilosa yang tinggi (Chen, 2003). Diduga mikroba yang menghasilkan enzim pullulanase lebih tinggi dibandingkan dengan mikroba yang menghasilkan amilase sehingga jumlah amilopektin yang dipecah menjadi amilosa lebih besar daripada amilosa yang dipecah menjadi gula sederhana dan menyebabkan kadar amilosa tepung lebih tinggi (Akbar dan Yuniarta 2013).

Jika dibandingkan dengan kadar amilosa dan amilopektin tepung terigupada penelitian Pradipta dan Putri (2015), dengan kadar masing-masing sebesar 28% dan 72%, pada penelitian ini kadar amilosa terbaik (26%) hampir sama dengan kadar amilosa pada tepung terigu. Oleh karena itu, diharapkan pada penelitian selanjutnya dapat menghasilkan tepung dengan kadar HCN rendah, protein tinggi dengan tetap mempertahankan kadar pati dalam tepung.

Menurut Parker (2003), amilosa yang memiliki ikatan α -1,4 glikosida yang tidak bercabang menyebabkan ikatan amilosa lebih kuat sehingga sulit tergelatinisasi dan sulit dicerna. Oleh

karena itu kandungan amilosa yang tinggi lebih berpotensi untuk dijadikan bahan baku pati resisten. Pati resisten adalah salah satu jenis pati termodifikasi. Kandungan amilosa pada beberapa pati sumber bahan pangan antara lain tapioka 17%, kentang 21%, beras 28,60%, gandum 28%, *barley* 25,30%, *barley* kaya amilosa 44,10%, oat 29,40%, maizena 28,70%, dan maizena kaya amilosa 67,80% (Eliasson, 1996).

Pada penelitian Ilmi (2014), terjadi kenaikan kandungan amilosa pada pati setelah proses modifikasi tetapi hanya sedikit sekali. Amilosa memiliki rantai lurus yang panjang sehingga lebih sulit didegradasi oleh enzim dibandingkan amilopektin yang memiliki lebih banyak cabang.

Tabel IV.3 Komposisi Amilosa dan Amilopektin Pati Ganyong

Sampel	Kadar Pati Total (%bk)	Amilosa (%bk)	Amilopektin (%bk)
Pati Ganyong Merah	87,33	24,06	63,27
Pati Ganyong Putih	86,59	25,54	61,05
PM Ganyong Merah	86,60	24,76	61,84
PM Ganyong Putih	86,07	26,24	59,83

Keterangan : PM adalah pati modifikasi

Sumber : Ilmi (2014)

Tabel IV.4 Pati Resisten pada Pati Asli dan Pati Modifikasi

Sampel	Kadar Pati Resisten (%bk)
Pati Ganyong Merah	1,76
Pati Ganyong Putih	5,30
PM Ganyong Merah	3,50
PM Ganyong Putih	6,37

Keterangan : PM adalah pati modifikasi

Hasil yang didapatkan penelitian Ilmi (2004), pada Tabel IV.3 dan Tabel IV.4 bisa disimpulkan bahwa semakin tinggi kadar amilosa semakin tinggi pula kadar pati resisten yang didapat. Jika dibandingkan dengan gandum, pati resisten gandum lebih tinggi yaitu sebesar 11,95 % Ranhotra, dkk., (1991). Sehingga gandum sering digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan makanan yang baik untuk kesehatan karena kadar pati resisten yang tinggi.

Menurut Sajilata, dkk., (2006) bahwa salah satu faktor yang mempengaruhi kadar pati resisten yang dihasilkan adalah rasio amilosa dan amilopektin pada pati. Bahan pangan yang memiliki kadar amilosa yang lebih tinggi akan meningkatkan kadar pati resisten yang dihasilkan. Hal ini sejalan dengan pernyataan Shu, dkk., (2007) bahwa kandungan pati resisten yang tinggi berkorelasi dengan tingginya kandungan amilosa.

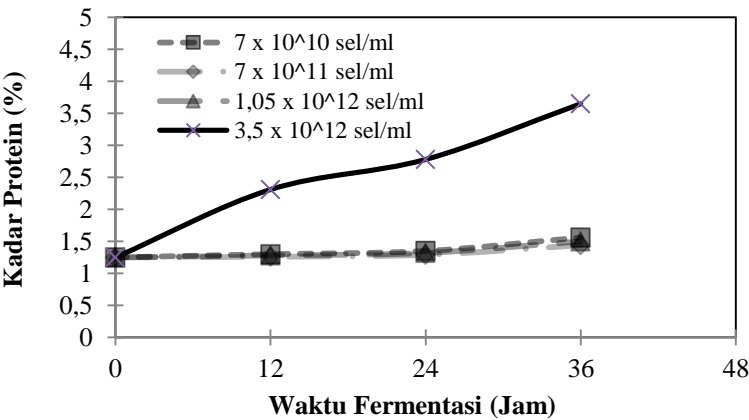
Menurut Aliawati (2003), kandungan amilosa dalam bahan pangan berpati digolongkan menjadi empat kelompok yaitu kadar amilosa sangat rendah dengan kadar $< 10\%$, kadar amilosa rendah $10 - 20\%$, dan kadar amilosa sedang $20 - 24\%$, dan kadar amilosa tinggi $> 25\%$. Berdasarkan hasil analisis diketahui bahwa kandungan amilosa pati ganyong merah tergolong sedang dan pati ganyong putih tergolong tinggi. Jika dibandingkan dengan penelitian ini, kadar amilosa terbaik yang didapat sebesar 26%. Sehingga singkong hasil fermentasi pada penelitian ini tergolong dalam kelompok kadar amilosa tinggi seperti pati ganyong putih. Hal ini menunjukkan bahwa singkong karet hasil fermentasi berpotensi sebagai bahan pembuatan pati resisten. Menurut Sajilata, dkk., (2006), pati resisten menunjukkan efek yang baik bagi fungsi fisiologi tubuh, yaitu memiliki efek hipoglikemik (menurunkan kadar gula darah setelah makan), berperan sebagai prebiotik, menurunkan kolesterol dan mengurangi resiko kanker usus. Efek fisiologis tersebut bekerja seperti fungsi serat pangan dalam tubuh, sesuai dengan yang dikatakan Nugent (2005) bahwa pati resisten memiliki karakteristik yang hampir sama dengan serat pangan, yaitu

sifatnya yang tahan terhadap hidrolisis enzim pencernaan dan tidak dapat tercerna dalam usus halus tapi terfermentasi dalam kolon. Pati jenis ini memiliki sifat yang lebih baik sehingga banyak diaplikasikan pada industri pangan sebagai bahan pembantu bagi produk pangan tertentu.

IV.4 Pengaruh Jumlah Sel dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar Protein

Protein adalah sumber asam-asam amino yang mengandung unsur-unsur C,H,O dan N yang tidak dimiliki oleh lemak atau karbohidrat. Protein merupakan senyawa organik kompleks yang merupakan polimer dari monomer-monomer asam amino yang dihubungkan satu sama lain dengan ikatan peptida. Protein berperan penting dalam struktur dan fungsi semua sel makhluk hidup dan virus (Indriyani, 2015).

Penerapan jumlah protein secara empiris (tidak langsung) yang umum dilakukan adalah dengan menentukan jumlah 68 nitrogen (N) yang dikandung oleh suatu bahan. Cara penentuan ini dikembangkan oleh Kjeldahl, seorang ahli kimia Denmark pada tahun 1883.



Gambar IV.5 Grafik Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar Protein MOCAF

Dari Gambar IV.5 dapat dilihat bahwa kadar protein dari keempat konsentrasi/jumlah mikroorganisme meningkat. Untuk variabel 7×10^{10} sel/ml kadar protein meningkat dari 1,25% menjadi 1,3% pada fermentasi jam ke-12, 1,35% pada fermentasi jam ke-24 dan 1,56% pada fermentasi jam ke-36. Untuk variabel 7×10^{11} sel/ml kadar protein meningkat dari 1,25% menjadi 1,26% pada fermentasi jam ke-12, 1,29% pada fermentasi jam ke-24 dan 1,44% pada fermentasi jam ke-36. Untuk variabel $1,05 \times 10^{12}$ sel/ml kadar protein meningkat dari 1,25% menjadi 1,28% pada fermentasi jam ke-12, 1,32% pada fermentasi jam ke-24 dan 1,5% pada fermentasi jam ke-36. Untuk variabel $3,5 \times 10^{12}$ sel/ml kadar protein meningkat dari 1,25% menjadi 2,31% pada fermentasi jam ke-12, 2,78% pada fermentasi jam ke-24 dan 3,65% pada fermentasi jam ke-36.

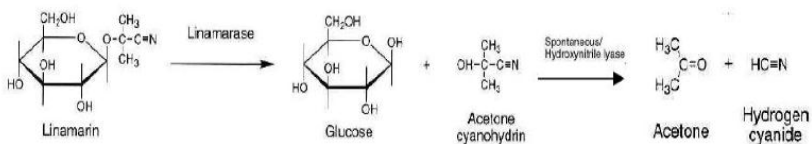
Hasil analisa yang diperoleh menunjukkan bahwa semakin lama waktu fermentasi dan semakin banyak jumlah mikroorganisme yang digunakan, maka semakin meningkatkan kadar protein yang diperoleh. Hasil tersebut sesuai dengan penelitian Gunawan, dkk., (2015). Proses fermentasi menggunakan bakteri *Lactobacillus plantarum* menyebabkan kadar protein meningkat karena selama fermentasi bakteri asam laktat menghasilkan beberapa enzim, salah satunya enzim proteinase. Aktifitas enzim proteinase yang dihasilkan selama fermentasi akan menaikkan kadar protein dalam singkong. Semakin lama waktu fermentasi menyebabkan jumlah bakteri yang tumbuh semakin meningkat, semakin banyak pula enzim yang dihasilkan, sehingga kadar protein terlarut juga ikut meningkat. Peningkatan jumlah protein juga disebabkan adanya pertambahan jumlah mikroorganisme yang berperan sebagai *Single cell protein* (SCP), yaitu protein yang didapat dari mikroorganisme (Becker, 1982). Alasan lainnya yaitu fermentasi mengakibatkan mikroorganisme mengkonversi substrat yang mengandung karbon dan nitrogen menjadi protein.

SNI minimal untuk kandungan protein dalam tepung MOCAF adalah 7%. Namun dari seluruh variabel penelitian yang dilakukan kadar protein tertinggi yang dihasilkan sebesar 3,65% dan belum memenuhi standar minimal SNI. Hal ini dapat dikarenakan jumlah mikroorganisme yang ditambahkan dalam fermentasi belum cukup untuk menaikkan kadar protein sampai 7%.

IV.5 Pengaruh Jumlah Sel dan Lama Fermentasi Terhadap Kadar HCN

Singkong mengandung komponen racun potensial yang disebut *cyanogenic glycosides*, terutama linamarin dan sejumlah kecil lotaustralin (ethyl linamarin). Menurut Waspodo (1980), perbandingan linamarin dan lotaustralin adalah 93 % dan 7% terhadap total kandungan senyawa sianogenik. *Cyanogenic* merupakan senyawa racun, karena senyawa tersebut melepaskan hidrogen sianida (HCN) dari hidrolisis *enzymatic*. Proses hidrolisis yang dilakukan oleh enzim β -glukosidase yang dihasilkan mikroorganisme pada glukosida sianogenik menghasilkan sebagian gula dan hidroksi nitril yang akan kembali terpisahkan atau secara enzimatik menjadi sianida dan campuran karbonil (ketosa dan aldosa) (Frehner, 1995). Proses pemecahan linamarin yang terdapat pada singkong oleh enzim linamarase menjadi glukosa dan senyawa aseton sianohidrin (aglikon) kemudian melepaskan asam sianida dan aseton secara spontan pada suhu $> 35^{\circ}\text{C}$ (Siritunga, 2003).

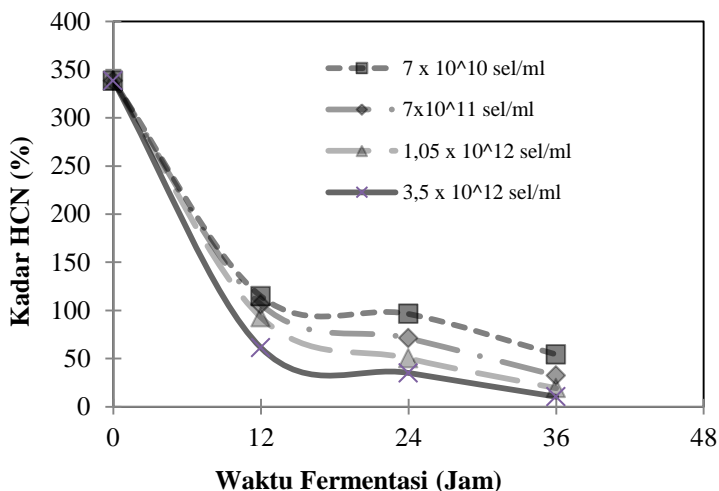
Reaksi pembentukan asam sianida dari linamarin dapat dilihat pada reaksi berikut:



Karena sianida bersifat racun, sebelum dikonsumsi singkong terlebih dahulu diproses untuk mengurangi kadar racun

didalam umbi. Wahyuningsih (1990) menyatakan bahwa pada umumnya proses penghilangan (detoksifikasi) sianida dapat dipercepat oleh perendaman dalam air, penghancuran, pemotongan, pemanasan dan fermentasi.

Dalam proses perendaman, senyawa linamarin akan terhidrolisis (bereaksi dengan air) dan membentuk asam sianida yang larut dalam air. Linamarin jika terhidrolisis akan membentuk asam sianida yang mempunyai sifat mudah larut dalam air dan mudah menguap sehingga kadar linamarin dapat diturunkan melalui proses perendaman (Setyawardhani, 2011). Selain itu proses fermentasi mempengaruhi pembentukan asam laktat sehingga menurunkan pH sampai di bawah 6 dalam proses fermentasi. Hal ini mengakibatkan enzim laminarase menjadi non aktif dan linamarin tidak berubah menjadi HCN.



Gambar IV.6 Grafik Pengaruh Waktu Fermentasi dan Jumlah Mikroorganisme terhadap Kadar HCN MOCAP

Dari grafik kandungan HCN pada Gambar IV.6 dapat dilihat bahwa kadar HCN dari keempat konsentrasi/jumlah

mikroorganisme menurun. Untuk variabel 7×10^{10} sel/ml kadar HCN menurun dari 338,41 ppm menjadi 114,72 ppm pada fermentasi jam ke-12, 96,34 ppm pada fermentasi jam ke-24 dan 54,29 ppm pada fermentasi jam ke-36. Untuk variabel 7×10^{11} sel/ml kadar HCN menurun dari 338,41 ppm menjadi 106,23 ppm pada fermentasi jam ke-12, 71,11 ppm pada fermentasi jam ke-24 dan 32,4 ppm pada fermentasi jam ke-36. Untuk variabel $1,05 \times 10^{12}$ sel/ml kadar HCN menurun dari 338,41 ppm menjadi 92,81 ppm pada fermentasi jam ke-12, 50,18 ppm pada fermentasi jam ke-24 dan 19,26 ppm pada fermentasi jam ke-36. Untuk variabel $3,5 \times 10^{12}$ sel/ml kadar HCN menurun dari 338,41 ppm menjadi 61,25 ppm pada fermentasi jam ke-12, 35,09 ppm pada fermentasi jam ke-24 dan 10,44 ppm pada fermentasi jam ke-36.

Data tersebut menunjukkan bahwa semakin banyak jumlah sel *Lactobacillus plantarum* dan semakin lama fermentasi, semakin menurunkan kandungan HCN dalam singkong. Penurunan kadar HCN terjadi secara drastis pada waktu fermentasi dari 0 ke 12 jam. Hal ini disebabkan karena proses fermentasi yang dilakukan oleh mikroorganisme dapat mengubah glukosa menjadi asam organik, sehingga menyebabkan pH menurun menjadi ± 4.2 (Gunawan, dkk., 2015). Di sisi lain, aktivitas enzim laminarase optimum pada pH 6.0 (Askurrahman, 2010). Kondisi pH yang rendah dapat menurunkan aktivitas enzim laminarase untuk menurunkan linamarin yang berubah menjadi asam sianida. Selain itu enzim linamarin maupun HCN sangat larut dalam air, sehingga digunakan fermentasi tercelup agar sebagian besar HCN dan linamarin pada umbi singkong karet dapat berkurang. Oleh karena itu proses fermentasi dapat menurunkan kandungan asam sianida yang tinggi pada singkong karet.

Menurut SNI (2009) kadar maksimal untuk kandungan HCN dalam tepung MOCAF adalah 10 ppm. Dari data hasil penelitian, konsentrasi bakteri terbaik untuk menurunkan kadar HCN pada MOCAF adalah konsentrasi $3,5 \times 10^{12}$ sel/mL karena

dapat menurunkan HCN hingga 10,44 ppm. Namun hasil tersebut belum memenuhi standar maksimal SNI yang berlaku. Hal ini dapat dikarenakan jumlah mikroorganisme yang ditambahkan dalam fermentasi belum cukup untuk menurunkan kandungan HCN dalam singkong karet sampai sesuai standar yang berlaku.

IV.6 Analisis Pengaruh Variabel terhadap Hasil Penelitian

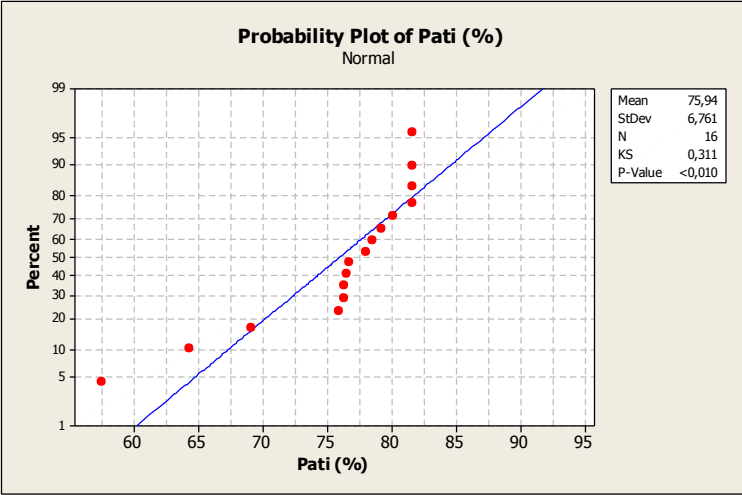
Dari penelitian yang dilakukan dengan variabel jumlah mikroorganisme dan lama fermentasi didapatkan hasil penelitian yang dapat dilihat pada Tabel IV.3. Dengan data yang didapatkan, maka untuk mengetahui variabel-variabel yang memiliki pengaruh signifikan dapat digunakan bantuan *software* minitab 16.

Tabel IV.5 Data Hasil Penelitian

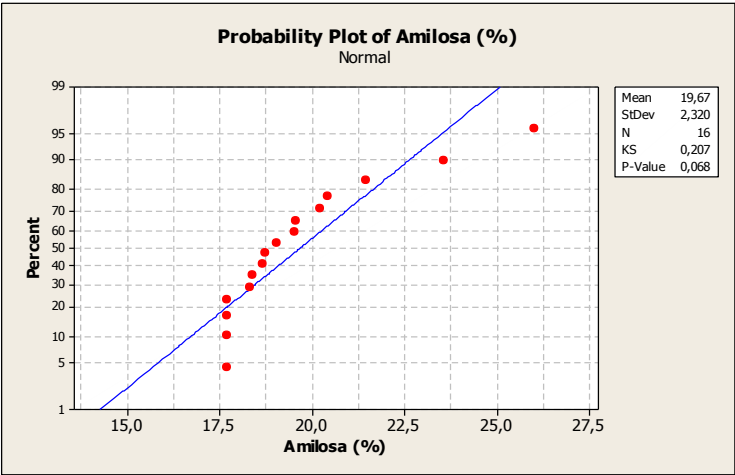
No	Jumlah Bakteri (sel/ml)	Lama Fermentasi (Jam)	Pati (%)	Amilosa (%)	Amilopektin (%)	Protein (%)	HCN (ppm)
1	7x10 ¹⁰	0	81,57	17,69	63,88	1,25	338,41
2		12	80,09	18,41	61,68	1,3	114,72
3		24	78,49	19,53	58,96	1,35	96,34
4		36	76,7	20,42	56,28	1,56	54,29
5	7x10 ¹¹	0	81,57	17,69	63,88	1,25	338,41
6		12	76,36	18,32	58,04	1,26	106,23
7		24	76,36	18,75	57,61	1,29	71,11
8		36	75,91	19,56	56,35	1,44	32,4
9	1,05x10 ¹²	0	81,57	17,69	63,88	1,25	338,41
10		12	79,2	18,66	60,54	1,28	92,81
11		24	78,05	19,06	58,99	1,32	50,18
12		36	76,52	20,23	56,29	1,5	19,26
13	3,5x10 ¹²	0	81,57	17,69	63,88	1,25	338,41
14		12	69,17	21,48	47,69	2,31	61,25
15		24	64,39	23,56	40,83	2,78	35,09
16		36	57,51	26	31,51	3,65	10,44

Dari data pada tabel IV.5, dapat dibuat grafik *normal probability plot* untuk setiap variabel terhadap respon yang diinginkan. Normal probability plot ini digunakan untuk menunjukkan persebaran data, apakah data tersebut menyebar

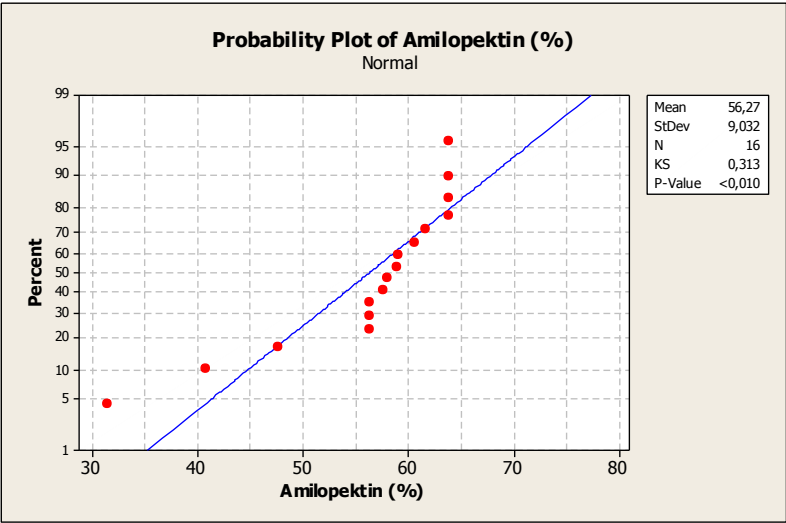
normal atau tidak. Apabila nilai $p\text{-value} > 0.05$ maka dapat dikatakan bahwa data tersebar normal.



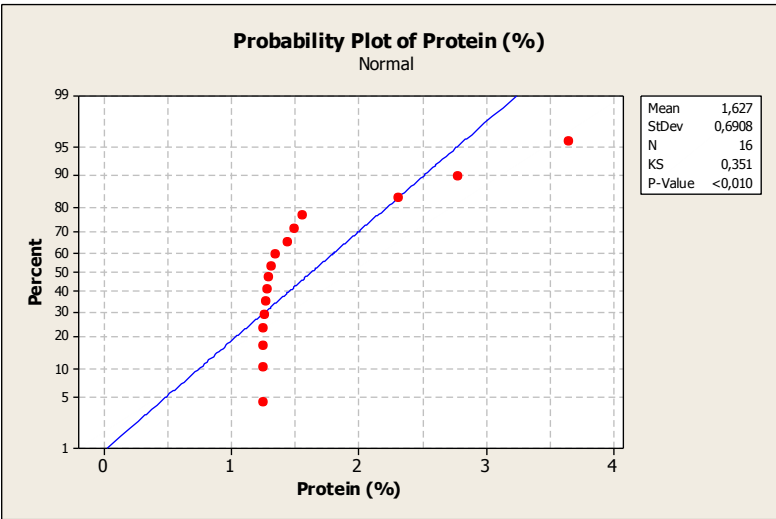
(a)



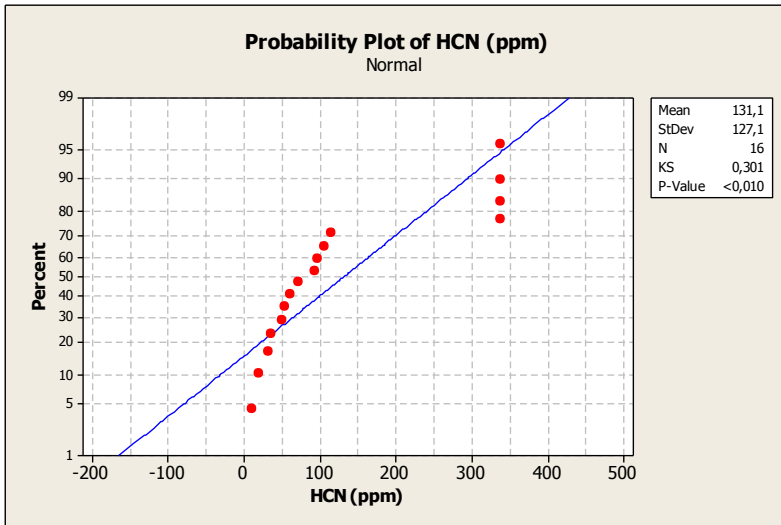
(b)



(c)



(d)



(e)

Gambar IV.7 Normal Probability Plot untuk Respon (a) Kadar Pati (b) Kadar Amilosa (c) Kadar Amilopektin d) Kadar Protein (e) Kadar HCN

Berdasarkan gambar IV.7, untuk data kadaramilosa tepung menunjukkan bahwa nilai $p\text{-value} > 0.05$, sebesar 0,068; sehingga data tersebut dapat dikatakan terdistribusi normal. Sedangkan untuk kadar pati, kadar amilopektin, kadar protein dan kadar HCN memiliki nilai $p\text{-value} < 0.05$. Hal ini menunjukkan bahwa data hasil penelitian tidak terdistribusi normal. Hal ini dapat disebabkan karena adanya *range* nilai yang cukup ekstrim pada data hasil penelitian.

Selain itu, pada penelitian ini dapat dilihat signifikansi pengaruh variabel lama fermentasi dan jumlah sel mikroorganisme. Dalam hal ini, variabel dikatakan signifikan terhadap respon apabila $p\text{-value}$ yang didapatkan memiliki nilai $< 0,05$.

Tabel IV.6 Data Hasil Perhitungan pada Kadar Pati

<i>Source</i>	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Jumlah Mikroorganisme	3	328,84	328,84	109,61	6,75	0,011
Lama Fermentasi	3	210,81	210,81	70,27	4,33	0,038
Error	9	146,11	146,11	16,23		
Total	15	685,76				

S = 4,02920 R-Sq = 78,69% R-Sq(adj) = 64,49%

Untuk hasil pengolahan data kadar pati pada Tabel IV.6 menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan oleh variabel lama fermentasi dan jumlah mikroorganisme. Hal ini dapat dilihat pada data tersebut bahwa nilai p menunjukkan angka $< 0,05$.

Tabel IV.7 Data Hasil Perhitungan pada Kadar Amilosa

<i>Source</i>	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Jumlah Mikroorganisme	3	34,043	34,043	11,348	6,92	0,010
Lama Fermentasi	3	31,908	31,908	10,636	6,48	0,013
Error	9	14,765	14,765	1,641		
Total	15	80,715				

S = 1,28083 R-Sq = 81,71% R-Sq(adj) = 69,51%

Untuk hasil pengolahan data kadar amilosa pada Tabel IV.7 menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan oleh variabel lama fermentasi dan jumlah mikroorganisme. Dapat dilihat pada data tersebut bahwa nilai p menunjukkan angka $< 0,05$.

Tabel IV.8 Data Hasil Perhitungan pada Kadar Amilopektin

<i>Source</i>	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Jumlah Mikroorganisme	3	568,12	568,12	189,37	6,79	0,011
Lama Fermentasi	3	404,49	404,49	134,83	4,83	0,029
Error	9	251,18	251,18	27,91		
Total	15	1223,79				

S = 5,28285

R-Sq = 79,48%

R-Sq(adj) = 65,79%

Untuk hasil pengolahan data kadar amilopektin pada Tabel IV.8 menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan oleh variabel lama fermentasi dan jumlah mikroorganisme. Hal ini dapat dilihat pada data bahwa nilai p menunjukkan angka $<0,05$.

Tabel IV.9 Data Hasil Perhitungan pada Kadar Protein

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Jumlah mikroorganisme	3	4,0428	4,0428	1,3476	6,63	0,012
Lama Fermentasi	3	1,2881	1,2881	0,4294	2,11	0,169
Error	9	1,8282	1,8282	0,2031		
Total	15	7,1591				

S = 0,450703

R-Sq = 74,46% R-Sq(adj) = 57,44%

Dari hasil pengolahan data, jumlah mikroorganisme memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar protein. Hal tersebut dapat dilihat dari Tabel IV.9 bahwa nilai p kurang dari 0,05; sedangkan lama fermentasi tidak memberikan pengaruh yang signifikan, dengan nilai $p = 0,169$.

Tabel IV.10 Data Hasil Perhitungan pada Kadar HCN

<i>Source</i>	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
Jumlah mikroorganisme	3	3425	3425	1142	7,14	0,009
Lama Fermentasi	3	237560	237560	79187	495,39	0,000
Error	9	1439	1439	160		
Total	15	242423				

S = 12,6431

R-Sq = 99,41%

R-Sq(adj) = 99,01%

Dari hasil pengolahan data, jumlah mikroorganisme dan lama fermentasi memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar protein. Hal tersebut dapat dilihat dari Tabel IV.10 bahwa nilai p kurang dari 0,05.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

1. Semakin banyak jumlah sel *Lactobacillus plantarum* dan semakin lama fermentasi, akan semakin menurunkan kadar pati dan menaikkan kadar protein. Kadar pati dan protein terbaik didapat pada variabel $3,5 \times 10^{12}$ sel/ml dan 36 jam fermentasi. Kadar pati menurun dari 81,57% menjadi 57,51%, protein naik dari 1,25% menjadi 3,65%,
2. Semakin banyak jumlah sel *Lactobacillus plantarum* dan semakin lama fermentasi, akan semakin menurunkan kadar HCN. Kadar HCN terbaik didapat pada variabel $3,5 \times 10^{12}$ sel/ml dan 36 jam fermentasi. KadarHCN menurun dari 338,41 ppm menjadi 10,44 ppm.
3. Semakin lama waktu fermentasi semakin tinggi kadar amilosa, sedangkan kadar amilopektin semakin rendah. Pada variabel $3,5 \times 10^{12}$ sel/ml kadar amilosa meningkat dari 17,69% menjadi 21,48% (12 jam), 23,56% (24 jam) dan 26% (36 jam). Sedangkan semakin banyak konsentrasi bakteri, kadar amilosa meningkat dan amilopektin menurun tetapi tidak signifikan. Kecuali pada variabel $3,5 \times 10^{12}$ sel/ml didapatkan kadar amilosa yang meningkat secara drastis dari 17,69% (0 jam) menjadi 26% (36 jam) dan didapatkan kadar amilopektin yang menurun secara drastis dari 63,88% (0 jam) menjadi 31,51% (36 jam).
4. Singkong karet hasil fermentasi berpotensi digunakan sebagai bahan pembuatan *resistant starch* (RS) karena memiliki kadar amilosa yang tinggi yaitu sebesar 26%.

V.2 Saran

1. Untuk penelitian selanjutnya, dapat digunakan konsentrasi bakteri yang lebih tinggi agar didapatkan kadar protein dan asam sianida sesuai dengan SNI. Setelah dilakukan perhitungan, untuk mencapai kadar protein 7% dibutuhkan konsentrasi bakteri sebanyak $8,39 \times 10^{12}$ sel *L.plantarum* / ml.
2. Melakukan pengujian jenis-jenis bakteri dan kondisi pH saat fermentasi.
3. Perlu pengujian jumlah bakteri setelah dilakukan penghentian proses fermentasi.
4. MOCAF dari singkong karet sangat berpotensi sebagai sumber pangan masyarakat Indonesia, sehingga budidaya singkong karet perlu dilakukan. Hal ini juga dapat menaikkan nilai ekonomi dari singkong karet.

DAFTAR PUSTAKA

- Abriba, C. 2012. *Microbial Succession and Odor Reduction During the Controlled Fermentation of Cassava Tubers for the Production of 'Foofoo', A Staple Food Consumed Popularly in Nigeria*. J. Microbiol. Biotech. Res. 2 (4): 500-506.
- Ardhana, M. 1982. *The Microbial Ecology of Tape Ketan Fermentation*. Thesis. The University of New South Wales University, Sydney.
- Arifwan, Erwin, Kartika, R. 2016. *Pembuatan Bioetanol Dari Singkong Karet (Manihot Glaziovii Muell) Dengan Hidrolisis Enzimatik Dan Difermentasi Menggunakan Saccharomyces Cerevisiae*. Jurnal Atomik, 10-12.
- Buckle, K.A., R.A. Edwards, G.H. Fleet, and M. Wooton. 1987. *Ilmu Pangan*. Universitas Indonesia Press. Jakarta. 365 hlm.
- Chen, Z. 2003. *Phsycochemical Properties of Sweet Potato Starches and Their Application in Noodle Products*. Disertasi. Wageningen University. Belanda
- Eliasson, A.C. 1996. *Carbohydrates in Foods*. University of Lund, Swedia.
- Emmanuel, N.O., Olufunmi, A.O., and Elohor, E.P. 2015. *Effect of Fermentation Time on the Physico-Chemical, Nutritional and Sensory Quality of Cassava Chips (Kpo-KpoGarri) a Traditional Nigerian Food*. American Journal of Bio Science 3(2): 59-63.
- Fennema, O. 1976. *Principles of Food Science, Food Chemistry, Part I*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Obboh, G. 2003. *Biochemical changes in cassava products (flour & gari) subjected*. ELSEVIER , 599-602.
- Ganjar, I. 2003. *Tapai from Cassava and Sereals*. First International Symposium and Workshop on Insight into the World of Indigenous Fermented Foods for Technology Development and Food Safety, 1-10.

- Ginandjar, I. 1977. *Fermentasi Biji Mucuna pruriens DC dan Pengaruhnya Terhadap Kualitas Protein*. Disertasi. IPB. Bandung.
- Greenwood, C.T., D.N. Munro. 1979. *Carbohydrates*. Di dalam R.J.Priestley,ed. *Effects of Heat on Foodstuffs*. Applied Seience Publ. Ltd.,London.
- Gunawan, S., Widjaja, T., Zullaikah, S., Ernawati, L., Istianah, N. 2015. *Effect of fermenting cassava with Lactobacillus plantarum, Saccharomyces cerevisiae, and Rhizopus oryzae on the chemical composition of their flour*.International Food Research Journal 22(3) , 1280-1287.
- Hee-Young An. 2005, *Effects of Ozonation and Addition of Amino acids on Properties of Rice Starches*. A Dissertation Submitted to the Graduate Faculty of the Louisiana state University and Agricultural and MechanicalCollege.
- Ilmi, F. N. 2014. *Produksi Pati Ganyong (Canna Edulis Kerr) Resisten Tipe IV Melalui Modifikasi Asetilasi*. Bogor: IPB.
- Isna, Y. 2013. *Evaluasi Nutrisi Singkong Karet (Manihot glaziovii) yang Didetoksifikasi dengan Bahan Penyerap Abu dalam Ransum Sapi Potong Ditinjau dari Nilai Kecernaan dan Fermentabilitas Secara in Vitro*. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Kobawila, S. C., Louembe, D., Keleke, S., Hounhouigan, J., and Gamba, C. 2005. *Reduction of The Cyanide Content During Fermentation of Cassava Roots and Leaves to Produce Bikedi and NtobaMbodi, Two Food Products from Congo*. Congo: African Journal.
- Kusumaningrum, A., dan Sumardiono, S. 2014. *Upaya Perbaikan Sifat Fisikokimia Tepung Ubi Kayu Melalui Proses Fermentasi Sawut Ubi Kayu Dengan Starter Bakteri Asam Laktat Lactobacillus Casei Dan*

Pemanfaatannya Sebagai Bahan Baku Snack Tradisional Pilus Dan Roti Muffin.

- Lehninger, A. 1975. *Biochemistry, The Molecular Basis of Cell Structure and Function, 2nd. Ed.,*. Worth Publisher Inc.
- Matz, S.A. 1976. *Snack Food Technology*. AVI. Westport.
- Moshi, A. P. 2015. *Production of Bioethanol from Wild Cassava Manihot glaziovii through Various Combinations of Hydrolysis and Fermentation in Stirred Tank Bioreactors*. Sweden: British Journal.
- Muzanila, Y. B. 2000. *Residual cyanogens, chemical composition and aflatoxins in cassava flour from Tanzanian villages*. Food Chem , 45-49.
- Nair, S.U., Singhal, R.S., and M.Y. Kamat. 2006. *Enhanced Production of Thermostable Pullulanase Type 1 Using Bacillus cereus FDTA 13 and Its Mutant*. Food Technol. 44, 275-282
- Nastiti, S. dan Syarifah, F. 2015. *Pengaruh Lama Fermentasi dan Jumlah Sel Lactobacillus plantarum Terhadap Kualitas Tepung Mocaf (Modified Cassava Flour)*. ITS Surabaya.
- Nugraheni, H. dan Utama, A. 2013. *Teknologi Pengembangan MOCAF untuk Peningkatan Diversifikasi Pangan dan Ekonomi*. Yogyakarta: LPPM Universitas Negeri Yogyakarta.
- Obueh, HO., Kolawole, SE. 2016. *Comparative Study on the Nutritional and Anti-Nutritional Compositions of Sweet and Bitter Cassava Varieties for Garri Production*. Journal of Nutrition and Health Sciences , 1-6.
- Ocloo, F. A. 2001. *Production of alcohol from cassava flour hydrolyzate*. Brew. Distil. 1 , 15-21.
- Oduah, N. A. 2015. *Effects of Fermentation on the Quality and Composition of Cassava Mash (Gari)*. International Journal of Food Nutrition and Safety , 6(1): 30-4.

- Ogunnaike, A.M., Adepoju, P.A., Longe, A.O., Elemo, G.N., Oke, O.V. 2015. *Effects of submerged and anaerobic fermentations on*. Academic Journal, 961-970.
- Onwueme IC. 1978. *The tropical tuber crops*. New York: John Wiley and Sons Ltd; .p. 274.
- Oyewole, O.A. 2012. *Locally fermented foods in Nigeria and their significance to National economy*. A Review. Journal of recent Advances in Agriculture , 92-102.
- Parker R. 2003. *Introduction to Food Science*. New York (US): Delmar Thomson Learning.
- Pertanian, B. 2011. *Inovasi Pengolahan Singkong Meningkatkan Pendapatan Dan Diversifikasi Pangan*. Jakarta Selatan: Badan Penelitian Dan Pengembangan Pertanian.
- Ramli, N., Omar, S.R., and Ramakrishnan, S.S. 2012. *Toxicological Assessment of Lactobacillus plantarum as a Probiotic Strain in Dark Chocolate*. ASFT: Malaysia.
- Smetankova, J., Hladikova, Z., Valach, F. 2012. *Influence of aerobic and anaerobic conditions on the growth and metabolism of selected strains of Lactobacillus plantarum*. Acta Chimica Slovaca, 204—210.
- Sui, C., Liang, J., Wang, F., Liu, J. 2016. *Cloning and bioinformatics analysis of a glutamate decarboxylase from Lactobacillus plantarum LpS2*. Biomedical Research, 298-304
- Sulistyo, J. and Nakahara, K. 2013. *Cassava Flour Modification by Microorganism*. Universiti Malaysia Sabah (UMS).
- Sumarno, S. N. 2002. *Estimasi Kadar Protein Dalam Bahan Pangan Melalui*. Majalah Farmasi Indonesia 13(1), , 34-43.
- Sumich, J. L. 1992. *An Introduction to The Biology of Marine Life. 5th Edition*. New York: Wm. C. Brown Publisher.
- Syahputri, D.A., dan Wardani, A.K. 2015. *Pengaruh Fermentasi Jali (Coix Lacryma Jobi-L) Pada Proses Pembuatan Tepung Terhadap Karakteristik Fisik Dan Kimia Cookies Dan Roti Tawar*. Jurnal Pangan dan Agroindustri Vol. 3 No 3, 984-995.

Wilson, W. 2002. *Why “bitter” cassava? The productivity of “bitter” and “sweet” cassava in a Tukanoan Indian settlement in the Northwest Amazon.* Economic Botany , 56(1): 49-57.

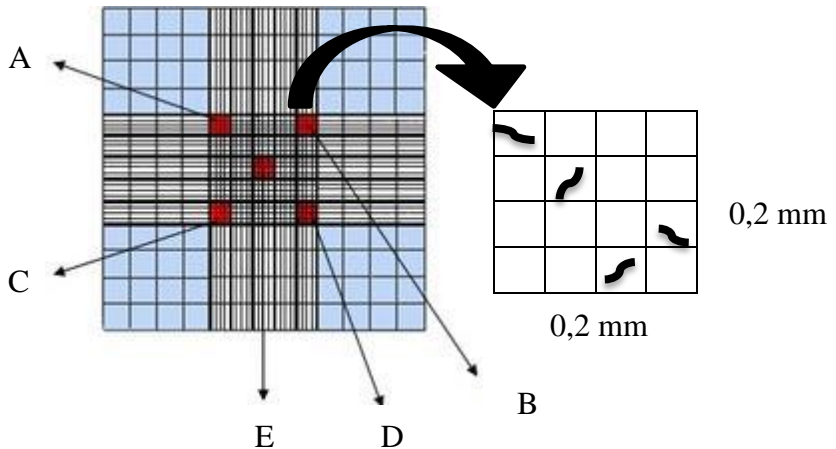
DAFTAR NOTASI

Notasi	Keterangan
MOCAP	<i>Modified Cassava Flour</i>
MGK	<i>Manihot glaziovii</i> Kisarawe
MGMU	<i>Manihot glaziovii</i> Muheza
°C	Celcius
N	Normalitas
mL	Mililiter
TTA	<i>Total Titrable Acidity</i>
mm	Millimeter
mg	Miligram
Kg	Kilogram
ppm	Part per million
V	Volume
E _{qwt}	Berat Equivalen Asam
g	Gram
v/v	Volume/volume
t	<i>Temperature</i>

APPENDIKS

A.1 Perhitungan Jumlah Mikroorganisme (*Lactobacillus plantarum*)

Perhitungan jumlah mikroorganisme dalam pembuatan kurva pertumbuhan menggunakan metode *counting chamber*.



Jumlah bakteri dihitung menggunakan hemasitometer yang dibaca pada mikroskop dengan perbesaran 400x (lensa obyektif 40x dan lensa okuler 10x). Perhitungan jumlah bakteri ini dilakukan tiga kali, sehingga diperoleh rata-rata jumlah bakteri setiap 2 jam dengan simpangan bakunya. Berikut merupakan contoh perhitungan jumlah sel *Lactobacillus plantarum* yang diambil pada jam ke-4

Run	A	B	C	D	E	Jml tot sel	Jml sel/ kotak	Jml sel/ mm ²	Jml sel/ mm ³	fp	Jml sel/ ml
1	17	15	34	36	15	117	23,4	585	5850	10	5850000 0
2	11	19	20	17	8	75	15	375	3750	10	3750000 0
3	21	47	33	77	8	209	41,8	1045	10450	10	1045000 00
Rata-rata										66833333	

Contoh perhitungan pada run ke-1

- Jumlah sel = 117
- Jumlah kotak = 5
- $\frac{Jumlah\ sel}{Kotak} = \frac{117}{5} = 23,4$
- $\frac{jumlah\ sel}{mm^2} = \frac{Jumlah\ sel}{Kotak} \times \frac{1}{0,04\ mm^2} = \frac{23,4}{0,04}$
= 585
- $\frac{jumlah\ sel}{mm^3} = \frac{Jumlah\ sel}{mm^2} \times \frac{1}{0,1\ mm} = \frac{585}{0,1}$
= 5850
- $\frac{jumlah\ sel}{mL} = \frac{Jumlah\ sel}{mm^3} \times \frac{1000\ mm^3}{1\ mL}$
= 5850000 $\frac{sel}{mL}$
- $\frac{jumlah\ sel}{mL} = 5850000 \frac{sel}{mL} \times 10$ (Faktor pengenceran)
- $\frac{jumlah\ sel}{mL} = 58500000 \frac{sel}{mL}$

Dilakukan perhitungan yang sama untuk masing-masing run. Sehingga didapatkan 3 data jumlah sel/ml yang kemudian dihitung rata-rata dan simpangan baku jumlah sel/mL untuk tiap 2 jam.

RIWAYAT HIDUP PENULIS



Sekar Bias Tri Cahyani, putri dari pasangan Bapak Ngatiyono dan Ibu Endang Sri Sayekti. Lahir pada tanggal 26 Januari 1993. Penulis mulai mengenyam pendidikan di SDN Rungkut Menanggal I Surabaya (1999-2005), SMP Negeri I Gondanglegi, Malang (2005-2008), SMA Negeri I Gondanglegi, Malang (2008-2011), D3 Teknik Kimia FTI-ITS (2012-2015) dan S1 Teknik Kimia FTI-ITS (2015-2017) yang kemudian pada tahun 2016 mulai melakukan penelitian di Laboratorium Teknologi Biokimia dan menulis karya berjudul : “Pengaruh Waktu Fermentasi dan Penambahan Kultur terhadap Mutu Singkong Termodifikasi”. Penulis pernah melakukan kerja praktek di PT. Petrosida Gresik dan aktif sebagai ketua PKM terdani tahun 2017.

Email penulis : biastri26@gmail.com
No. HP : 085731415165



Tika Surya Ningsih, putri dari pasangan Bapak Suyadi dan Ibu Kustatik. Lahir pada tanggal 25 Mei 1994. Penulis mulai mengenyam pendidikan di SDN Srirande 2 (2000-2006), SMP Negeri 2 Deket (2006-2009), SMA Negeri 3 Lamongan (2009-2012), D3 Teknik Kimia FTI-ITS (2012-2015) dan S1 Teknik Kimia FTI-ITS (2015-2017) yang kemudian pada tahun 2016 mulai melakukan penelitian di Laboratorium Teknologi Biokimia dan menulis karya berjudul : “Pengaruh Waktu Fermentasi dan Penambahan Kultur terhadap Mutu Singkong Termodifikasi”. Penulis pernah melakukan kerja praktek di PT. Petrosida Gresik dan peserta PIMNAS ke-28.

Email penulis : tikasuryaningsih2505@gmail.com
No. HP : 085812072235